VOLUMEN 7 DICIEMBRE, 1959 FASCICULO 2

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

REVISTA
DE
BIOLOGIA TROPICAL



SAN JOSE COSTA RICA

Los artículos que se deseen someter para su publicación deberán ser enviados a: Dirección de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL", Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C. La correspondencia relativa a canje y suscriciones deberá dirigirse a: Biblioteca de la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica, A. C.

REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 7 DICIEMBRE, 1959 FASCICULO 2

SUMARIO

CLAUDATUS, J., P. GUTIERREZ & D. LEFEMINE.—Decarboxylation pathways of amino acids in some mammal and bird tissues 133

JAKOWSKA, SOPHIE.—Algunos problemas en hematología comparada 143

MATA, GRACE G. DE & L. MATA.—Dermatofitosis en Costa Rica. I. Observaciones sobre 76 casos 157

BRENES, R., G. ARROYO, O. JIMÉNEZ & E. DELGADO.—Helmintos de la República de Costa Rica. XIII. Algunos tremátodos de *Rana pipiens*. Descripción de *Glypthelmins facioi* n. sp. 191

JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Epidermofitosis de los pies (pie de atleta) en estudiantes preuniversitarios 199

JIMÉNEZ, J. M.—Determinación del nitrógeno ureico y de la glucosa en 0,25 ml de sangre capilar 203

BOLAÑOS, R.—Frecuencia de *Salmonella* y *Shigella* en moscas domésticas colectadas en la ciudad de San José 207

ZELEDÓN, R.—Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de *Schizotrypanum cruzi* 211

RUIZ, A.—Notes on Costa Rican opalinids. I. *Opalina moreletei* Metcalf 217

RUIZ, A., & M. ALFARO.—Notes on Costa Rican opalinids. II. *Zelleriella antillensis* (Metcalf) and *Z. bufoxena* Metcalf 219

RUIZ, A.—Eimerias de los bovinos de Costa Rica. I. Incidencia en animales adultos y sanos 221

JIMÉNEZ, J. M., & J. DE ABATE.—Acción de hormonas vegetales sintéticas en talofitas. I. Estudio sobre hongos patógenos *in vitro* 225

RUIZ, A., & M. ALFARO.—*Retortamonas intestinalis* (Wenyon et O'Connor) en Costa Rica 231

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 133-141, 1959

Decarboxylation Pathways of Amino Acids in Some Mammal and Bird Tissues*

by

John Claudatus** Pedro Gutierrez**
Donald Lefemine**

(Received for publication August 7, 1959)

In a previous study (1) we have described some observations on the decarboxylation of amino acids in fish tissues.

The present paper reports the results obtained using the same paper chromatographic technique (2, 3) with tissue homogenates of some terrestrial animals.

These findings do not represent a systematic study of the decarboxylation pathway of amino acids of the terrestrial animals because they were aimed to give collateral information on the metabolism of indolalkylamines and histamine but they add some data in the very little explored field of Comparative Biochemistry.

MATERIAL AND METHODS

The tissues of laboratory animals were used immediately and those obtained from the slaughter house were immediately frozen and used after 2-3 days.

It has been shown for fish tissues (1) that freezing for weeks does not change the ninhydrin patterns of amino compounds.

The homogenates were made with cold M/15 phosphate buffer pH 7.5 (1:2) and strained through cheese cloth.

For the tissue blanks 0.5 ml of homogenate, 0.4 ml pyridoxal phosphate (0.1 mg/ml) and 1.2 ml phosphate buffer pH 7.5 were added. The samples containing serotonin or histamine respectively were obtained by adding to 0.4

---

* Supported by a research grant from the National Cancer Institute (C3307) Department of Health, Education and Welfare.

** The Cancer Institute at Miami, Miami, Florida.

ml homogenate, 0.4 ml pyridoxal phosphate, 0.4 ml M/50 of the corresponding amine and 0.8 ml phosphate buffer pH 7.5. Amine blanks were prepared by mixing 0.4 ml M/50 amine with 0.4 ml pyridoxal phosphate (0.1 mg/ml) and 1.2 ml buffer.

For the samples incubated under N_2 and O_2, incubation time was 2 hours at 37°C in a shaking incubator. All samples, incubated and non-incubated, were added with 5 ml ethanol/acetic acid (9/1), centrifuged, and 2 ml of the supernatant were evaporated in vacuum over NaOH pellets. The residue was picked up in 1 ml ethanol (95%) and centrifuged; 0.25 ml of clear supernatant was spotted, under an atmosphere of N_2 on Whatman N° 1 chromatographic strips 1 x 20 in.; evaporation was hastened by infrared heat. The strips were developed by descending chromatography, in a chromatocab, using propanol water 5/1 as a solvent (7). After drying, the chromatograms were sprayed with 0.25% ninhydrin in butanol and heated in an oven for 15 minutes at 65°C (6).

RESULTS

Pig liver and kidney

As can be seen from Fig. 1, the pig kidney has three lower bands corresponding to three preformed amines (group of three strips N° 4); strong disappearance of serotonin is observed under anaerobic incubation of serotonin in kidney but not in liver (second strip group N° 5); probably by conjugation; both liver and kidney show disappearance of serotonin after incubation under 0_2 (third strip group N° 2 and N° 5); no significant disappearance of histamine was observed in kidney or liver (group N° 3 and N° 6) indicating very little or absence of histaminase. The thin bands observed over the bands of histamine in liver samples (group N° 3) show the presence of free glucose (4) which is absent in kidney homogenate. There is a difference in the nature of one of the five free amino acids between pig liver and kidney, three being identical as can be seen from five bands of all the groups.

Ox adrenals

As can be seen from Fig. 2 (group of strips N° 1) there are present in ox adrenals two preformed amine-like compounds (the two lower bands); these two compounds are not dopa-amine or noradrenalin because under the present experimental conditions the above mentioned known amines would have different Rfs and tan color. The observed unknown bands are blue. The nature of these compounds is under study. As can be seen from the groups of strips N° 3 and N° 4, added serotonin or histamine are not appreciably metabolized by ox adrenal homogenate indicating the absence of both mono and diamine oxidase or conjugases.

GUINEA PIG LIVER

Fig 3 shows that in the guinea pig liver serotonin is strongly metabolized anaerobically and aerobically (group N° 6).

Tarauco corythaix LIVER

Fig. 4 shows strong anaerobic and aerobic catabolism of added serotonin (strong conjugase? and monoamine oxidase activities), and very slight if any transformation of histamine (no conjugases or histaminase).

Cathartes aura septentrionalis (TURKEY BUZZARD) LIVER

Fig. 5 shows absence of anaerobic metabolism of serotonin and histamine (absence of conjugases? and strong aerobic metabolism (monoamine oxidase and diamine oxidase activity). It is well known (5) that the turkey buzzard liver has great histaminase activity.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to acknowledge the interest and encouragement given to us by Dr. J. E. Ayre, Director of the Cancer Institute at Miami; and to thank Miss M. D. Bellomy for the efforts extended in procuring a specimen of *Tarauco corythaix;* also, Dr. R. H. Smithers, Director of the National Museum, Bulawayo, Southern Rhodesia, for callecting the specimen; also, Pan American World Airways, for all transportation arrangements; and Dr. L. Mitchell, for supplying ox adrenals used in our investigations.

SUMMARY

The following data were obtained on the decarboxylation pathways of amino acids in some mammal and bird tissue homogenates:

1. PIG KIDNEY AND LIVER: Three preformed amine-like compounds were observed in the kidney and strong disappearance of added serotonin during anaerobic and aerobic incubation (strong conjugases? and monoamine oxidase activities). No significant disappearance of added histamine was found after anaerobic or aerobic incubation.

In the liver serotonin disappeared only after aerobic incubation. Free glucose (reacting with the added amines) was present in the liver but not in the kidney.

2. OX ADRENALS: Two preformed amine-like compounds were present which are not noradrenalin or dopa amine. Absence of conjugases or amine oxidases.

3. GUINEA PIG LIVER: Strong disappearance of added serotonin after

anaerobic incubation. No significant disappearance of added histamine in both types of incubations.

4. *Tarauco corythaix* LIVER: Strong anaerobic and aerobic disappearance of added serotonin and very slight if any disappearance of histamine in both types of incubation.

5. *Cathartes aura septentrionalis* (TURKEY BUZZARD) LIVER: Absence of anaerobic metabolism of added serotonin or histamine (absence of conjugases?) and strong aerobic disappearance of both amines after incubation with both amines, (strong mono and diamine oxidase activities).

RESUMEN

Los autores obtuvieron los siguientes resultados sobre la decarboxilación de aminoácidos en algunos tejidos homogenizados de mamíferos y aves.

1. RIÑÓN E HÍGADO DE CERDO: Fueron encontradas tres aminas preformadas y fuerte desaparición de la serotonina añadida, fuese por incubación aeróbica o anaeróbica (fuertes conjugasas? y actividad de monoamino oxidasas).

Después de incubación aeróbica y anaeróbica no se apreció desaparición de la histamina añadida. En el hígado la serotonina desapareció solamente después de la incubación aeróbica. Se encontró glucosa libre (que reacciona con las aminas añadidas) en el hígado, pero no en el riñón.

2. SUPRARRENALES DE BUEY: Se encontraron dos componentes que parecen ser aminas y que no son noradrenalina ni dopamina. Hay ausencia de conjugasas y amino oxidasas.

3. HÍGADO DE COBAYO: Se observó fuerte desaparición de la serotonina añadida en incubaciones aeróbicas y anaeróbicas, al mismo tiempo que no se observó desaparición significativa de la histamina añadida en ninguna de las incubaciones.

4. HÍGADO DE *Tarauco corythaix*: Durante las incubaciones aeróbicas y anaeróbicas se observó fuerte desaparición de la serotonina añadida y muy leve, si no ninguna, desaparición de la histamina.

5. HÍGADO DE *Cathartes aura septentrionalis:* Se observó ausencia de metabolismo anaeróbico de serotonina y histamina añadidas (ausencia de conjugasas?) y marcada desaparición aeróbica de las dos aminas después de la incubación (fuerte actividad de mono y diamino oxidasas).

REFERENCES

1. CLAUDATUS, J., P. GUTIERREZ & D. LEFEMINE
Decarboxylation pathways of amino acids in fish tissues. *Bull. Mar. Sci. Gulf & Carib.* (in press).

2. CLAUDATUS, J., & S. GINORI
1957. Blocked kynurenine pathway of tryptophan metabolism in hepatoma. *Science* 125:394.

3. CLAUDATUS, J., P. GUTIERREZ & D. LEFEMINE
1957. Absence of a liver factor reacting with indolalkylamines in hepatoma. *Arch. Biochem. & Biophys.* 72:316.

4. CLAUDATUS, J., P. GUTIERREZ & D. LEFEMINE
The ninhydrin colored compounds formed by reacting aldoses with histamine and indolalkylamines. (In preparation).

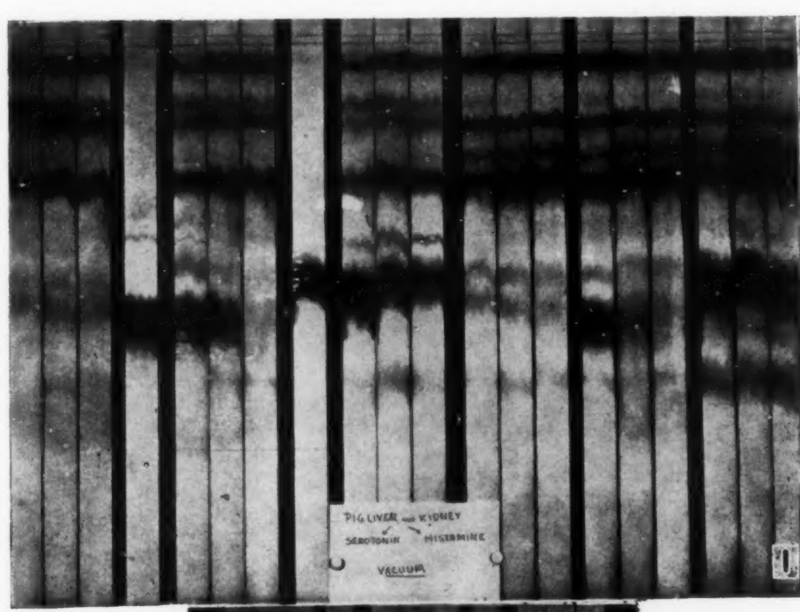
5. EUSTIS, A. C.
1915. *Biochem. Bull.* N. Y. 4-97.

6. KAY, R. E., D. C. DENIS & C. ENTERMAN
1956. Quantification of the ninhydrin color reaction as applied to paper chromatography. *Arch. Biochem. & Biophys.* 63:141.

7. UDENFRIEND, S., E. TITUS & J. WEISBACH
1955. The estimation of 5HO tryptamine (serotonin) in biological fluids. *J. Biol. Chem.* 216:499.

Fig. 1: *Metabolism of serotonin and histamine in pig liver homogenates.* In each group of three strips the first strips is non-incubated, the second N_2 and the third 0_2 incubated for 2 hours at 37°C. The single strips of amines blank are non-incubated (no change was observed after incubation of under N_2 or 0_2). The first group of three strips are pig liver homogenate blanks. The first single strip is serotonin blank. The second group of three strips has samples added with serotonin. The second single strip is histamine. The third group of three strips has liver homogenate samples added with histamine. The fourth group of three strips has pig kidney homogenate blanks. The fifth group pig kidney added with serotonin and the sixth group kidney homogenate added with histamine.

Fig. 2: *Metabolism of serotonin and histamine in ox adrenals homogenates.* In each group of three strips the first is non-incubated, the second N_2 incubated and the third 0_2 incubated. The first group of three strips has the adrenal homogenate blanks. The first single strip is the serotonin blank non-incubated; the second group has the homogenate added with serotonin. The second single strip is the histamine blank; the third group has the homogenate added with histamine.


PIG LIVER
KIDNEY
SEROTONIN
HISTAMINE
VACUUM
1

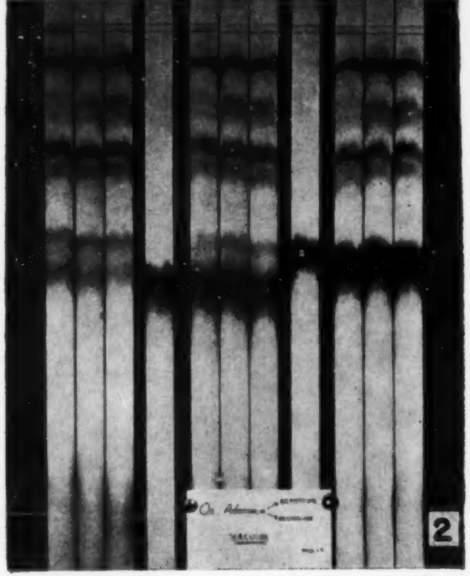
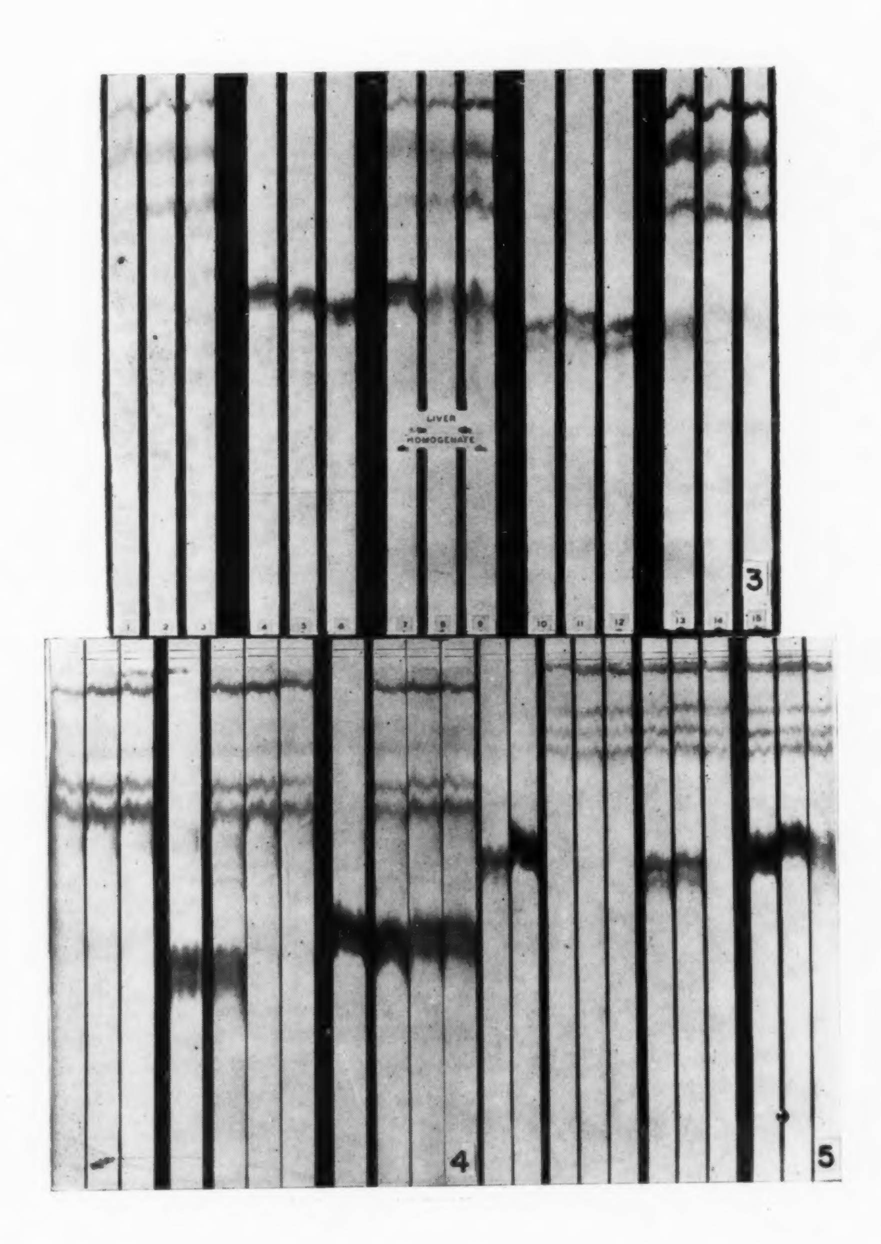

2

Fig. 3: *Metabolism of serotonin and histamine in guinea pig liver homogenates.* In each group of three strips the first strip is non-incubated, the second N_2 and the third 0_2 incubated. The first group has the guinea pig liver homogenate blanks; the second histamine blanks; the third liver homogenate added with histamine; the fourth serotonin blanks and the fifth homogenate added with serotonin.

Fig. 4: *Metabolism of serotonin and histamine in Tarauco liver homogenate.* In each group of three strips the first strip is non-incubated, the second N_2 and the third 0_2 incubated. The first group has the tauraco bird liver homogenate blanks; the first single strip is serotonin blank; the second group of strips has homogenate added with serotonin; the second single strip is histamine blank and the third group homogenate added with histamine.

Fig. 5: *Metabolism of serotonin and histamine in turkey buzzard liver homogenates.* The first strip is serotonin blank; the second histamine blank. In the following group, of three strips the first strip is non-incubated, the second N_2 and the third O_2 incubated. The first group of three strips has liver blanks, in the second the homogenate is added with serotonin and in the third group is added with histamine.


LIVER
HOMOGENATE
3
4
5

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 143-155, 1959

Algunos Problemas en Hematología Comparada*

por

Sophie Jakowska**

(Recibido para su publicación el 4 de septiembre de 1959)

Ya a fines de 1800 y comienzos de 1900 era evidente el interés que el estudio de la sangre animal despertaba en los hombres de ciencia, lográndose acumular apreciables datos bibliográficos alrededor de este tema (45, 49, 19, 39, 16, 17). En 1875, GULLIVER (18) presentó ante la Sociedad Zoológica de Londres, un extenso estudio de las dimensiones de los eritrocitos en un sinnúmero de vertebrados. Aún cuando en aquella época la presencia o ausencia de núcleo en los hematíes maduros del hombre y de los mamíferos era un problema discutido e inconcluso, GULLIVER intentó, por vez primera en la historia, clasificar los vertebrados basándose en las características citológicas de las células rojas. De esta manera, GULLIVER denominó "apyrenaemata" a los animales con eritrocitos no nucleados, tales como los mamíferos, mientras que a los animales con eritrocitos típicamente nucleados, como los ciclóstomos, los peces, los anfibios, los reptiles y las aves, los llamó "pyrenaemata".

En realidad, casi todas las autoridades de aquella época en el campo de la hematología humana, tales como METCHNIKOFF (34), MAXIMOW (32) (33), WEIDENREICH (47), WERZBERG (48) y DOWNEY (8, 9, 10), estuvieron asociados de una manera u otra con el estudio de los elementos celulares de la sangre de los invertebrados, peces, anfibios, reptiles y aves. Por otra parte, numerosas y extensas tesis doctorales versaron sobre este asunto (13, 30, 31), y las más famosas clínicas estuvieron vinculadas con estudios de hematología comparada. Más recientemente, YOFFEY (50), REZNIKOFF (41), PONDER (37) y otros hematólogos conocidos, principalmente en el campo de la medicina clínica, utilizaron vertebrados inferiores, o de sangre fría, en sus trabajos experimentales. Estas investigaciones no fueron el resultado de un "snobismo intelectual", sino de la firme convicción de que algunas enfermedades de la sangre

---

* Conferencia presentada en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) el día 13 de noviembre de 1957.

** College of Mount St. Vincent y New York Aquarium, New York Zoological Society.

humana podrían explicarse mediante el conocimiento de los elementos celulares de la sangre de los animales inferiores.

Fue así como la hematología comparada fue adquiriendo características propias, hasta aparecer como disciplina individualizada en el año 1938, en ocasión de haberse publicado en el *Handbook of Hematology,* editado por Hal Downey, un capítulo escrito por JORDAN con el título "Hematología Comparada" (28). Después de publicada esta obra monumental, en la que JORDAN compiló y evaluó hasta los artículos publicados en revistas no muy conocidas, los problemas de hematología comparada atrajeron la atención de médicos y zoólogos. Desde entonces, se han hecho familiares los trabajos de este tipo en los laboratorios científicos de diferentes países.

La hematología comparada, establecida firmemente como ciencia morfológica alrededor de 1930 (1), volvió a utilizar las técnicas y métodos modernos usados corrientemente por los hematólogos clínicos y citólogos experimentales. Métodos de análisis químico, electroforesis, estudios cromatográficos, eritrosedimentación, recuento globular, determinación de hemoglobina y técnicas de la citología experimental, tales como microscopía electrónica, ultracentrifugación, cultivo de tejidos, citoquímica, etc., se emplean hoy día en estudios de la sangre animal.

Los problemas que resultan al tratar de determinar los valores hematológicos normales en distintas especies animales, sobrepasan las dificultades de la técnica misma. Sin embargo, estos valores son de importancia práctica en los estudios de experimentación y siempre en condiciones determinadas. No se debe olvidar que los animales inferiores, en especial los vertebrados de sangre fría, poseen células sanguíneas que no son del todo comparables a las del hombre. Además, hay que determinar la técnica más apropiada para la obtención y preservación de la sangre, lo que a veces resulta algo difícil. El tiempo de coagulación y la fragilidad celular varían en las distintas especies, y la composición iónica del suero, el pH, etc., son también diferentes. En los invertebrados pueden existir, además de la hemoglobina o substituyendo a ésta, pigmentos sanguíneos tales como hemocianina y clorocruorina, los cuales están localizados en células especiales o, generalmente, en el plasma (40).

Cuando se trabaja con animales de sangre fría, hay que tomar en consideración las variaciones individuales y estacionales a que está sujeta la composición de la sangre. Estímulos externos o internos relativamente débiles producen cambios en la fórmula leucocitaria y en el recuento globular, particularmente en peces y anfibios, ya que estos animales están en íntimo contacto con el ambiente que les rodea por medio de intercambios osmóticos branquiales y cutáneos.

Uno de los problemas más árduos de la hematología comparada es el de la nomenclatura. El hecho de que algunos autores utilicen una nomenclatura incorrecta crea una de las mayores dificultades, sobre todo cuando se aplica arbitrariamente la terminología humana. No discutiremos en esta oportunidad, la nomenclatura hematológica de los invertebrados, ya que la clasificación de Ehrlich no es aplicable a sus células que son todas, generalmente, de tipo leucocitario

y no pueden ser diferenciadas en neutrófilos, basófilos y eosinófilos.

Recientemente tuvimos oportunidad de discutir en un artículo publicado en la *Revue d'Hematologie* (23) el problema de la terminología hematológica en los peces, y propusimos una nomenclatura simplificada que puede ser aplicada, en parte, a la sangre de otros vertebrados, tal como veremos en seguida.

Toda nomenclatura hematológica debe basarse en las condiciones específicas de la hematopoyesis de cada grupo de vertebrados. JORDAN, en sus numerosos y sistemáticos estudios, describió la evolución de los órganos hematopoyéticos de los vertebrados (27) y señaló la relativa importancia del bazo, mesonefros, médula ósea y ganglios linfáticos. Mediante estudios filogenéticos se observa que el bazo es de importancia primaria en la eritropoyesis, desde los ciclóstomos hasta los anfibios.

En los anfibios anuros y en una familia de urodelos (Plethodontidae) (2, 3), se observa que la médula ósea tiene una actividad eritropoyética que más o menos guarda relación con las estaciones del año, siendo más activa en la primavera. Este mismo fenómeno se observa en las tortugas y demás reptiles. Sin embargo, en las aves y mamíferos la médula ósea llega a ser el órgano principal en la producción de eritrocitos, granulocitos, linfocitos y trombocitos.

En la mayoría de los teleósteos y elasmobranquios, la parte anterior de los riñones o mesonefros produce eritrocitos y leucocitos, mientras que en los dipnoos solamente produce células blancas. En los anfibios urodelos típicos, los leucocitos se originan en la cápsula del hígado pudiendo observarse en el tejido perihepático polimorfonucleares y otros leucocitos en diferentes fases de desarrollo.

En los mamíferos el bazo participa en la destrucción y no en la producción de los eritrocitos, siendo la médula ósea el órgano principal del proceso de la hematopoyesis. Como vemos, en algunos vertebrados las células de las series eritrocitaria y leucocitaria se originan en un mismo órgano. En otros, estas células son producidas en órganos diferentes. De ahí que sea incorrecto aplicar los términos empleados en la hematología humana tales como linfoblasto, monoblasto y megablasto, a las células sanguíneas de los peces las cuales se originan en un mismo sitio, el mesonefro. Por otra parte, en vista de que no hay médula ósea en los peces urodelos típicos, el uso de los términos mielocito, mieloblasto o linfomielocito es impropio.

Otra razón por la que algunos términos de la hematología humana no son aplicables a otros vertebrados, es que el proceso de diferenciación de algunas células de la sangre es distinto. Por ejemplo, los trombocitos en los animales de sangre fría se diferencian directamente de las células madres. El proceso de segmentación múltiple típico en la formación de las plaquetas de los mamíferos no existe. En consecuencia, hay que evitar los términos megacarioblasto y megacariocito. Igualmente, el término normoblasto no está justificado cuando hablamos de los vertebrados que poseen normalmente eritrocitos nucleados, porque en ellos no se observa estado de transición comparable, esto es, que la desaparición del núcleo no se produce como en el caso de los mamíferos.

Cuando los vertebrados inferiores poseen células no-nucleadas llamadas eritroplástidos (4, 14), las mismas no deben ser consideradas homólogas a los hematíes humanos, ya que los eritroplástidos se originan por fisión citoplásmica de los eritrocitos. Un fragmento de citoplasma que contiene hemoglobina se separa de la parte nucleada de la célula. Así, la porción no nucleada, el eritroplástido, y la porción con núcleo y poco citoplasma, el microcito, circulan independientemente.

Otro hecho que debe tomarse en cuenta es que en los vertebrados inferiores, especialmente en los peces y anfibios, la sangre puede, a veces, contener muchas células inmaduras (5, 6), como resultado de ciertos estímulos externos o internos. Estas células inmaduras desaparecen gradualmente porque continúan su proceso de diferenciación en los vasos sanguíneos. Este poder de diferenciación no existe en el hombre ni en otros mamíferos. Por esta razón, cuando en la sangre de los peces hay numerosas células inmaduras, se produce un cuadro que sugiere un estado leucémico, aunque verdaderamente no lo es.

Los peces tienen también la facultad de utilizar órganos diferentes para formar células sanguíneas cuando el órgano principal no funciona debido a enfermedad. Esta facultad no existe en el hombre; así, cuando hay daños en los sitios hematopoyéticos, como la médula ósea y el bazo, el resultado es una anemia aplástica.

La brevedad de este trabajo no permite presentar todos los problemas que abarca la hematología comparada, por lo que únicamente se enfocarán aquellos en los cuales estamos interesados en el laboratorio del New York Aquarium.

Existe una anemia de tipo muy diferente de las que ocurren en el hombre, que se encuentra exclusivamente en una especie de tritones, *Diemictylus viridescens (Triturus viridescens)* (fig. 1), pero que es de importancia considerable como fenómeno clínico y citológico. Descubierta por NIGRELLI (35) en 1929, las causas de esta anemia no están aún bien claras. Los cambios patológicos característicos de esta condición incluyen una disminución de la porción citoplasmática del eritrocito, mientras el núcleo del mismo se agranda hasta cubrir casi todo el espacio originalmente ocupado por la hemoglobina (figs. 2 y 3). El aumento de tamaño del núcleo está acompañado de cambios en la cromatina la que, en esta circunstancia, no se tiñe con el reactivo de Feulgen o verde de metilo tan típicamente como en condiciones normales; además sus filamentos aparecen más finos. En la fase terminal de este proceso, el eritrocito se presenta como un núcleo aislado, sin citoplasma, y el contenido nuclear homogéneamente teñido (fig. 4). En su aspecto general se semeja a los eritroplástidos, razón por la cual NIGRELLI, al descubrir esta anemia, utilizó el término pseudoeritroplástido para designar estas células anormales.

JORDAN (29) sugirió, en un excelente artículo publicado en 1938, que esta anemia era el resultado de una deficiencia alimenticia y, en efecto, mantuvo tritones en estado de inanición durante 4 meses, al cabo de los cuales pudo comprobar este tipo de anemia en todos. Por otra parte, observó atrofia del bazo en todos los animales sin que la extirpación del mismo tuviera ninguna influencia sobre el curso de la anemia.

En estudios llevados a cabo por nosotros (20) hemos tenido ocasión de observar numerosos tritones en diferentes estados de nutrición y hemos llegado a la conclusión de que la atrofia del bazo no es un signo indispensable en la anemia pseudoeritroplástica, habiéndose observado la misma tanto en animales con bazos de tamaño normal o más grande, como en aquellos con atrofia de éste. En algunos casos, casi todas las células rojas en circulación presentaban estados iniciales o avanzados de la transformación de los eritrocitos en pseudoeritroplástidos. En algunas secciones microscópicas, el bazo contenía solamente pseudoeritroplástidos. Inyecciones de ácido fólico y de vitamina B_{12} en dosis muy altas, no determinaron cambio en la anemia de los tritones. De la misma manera, no se obtuvieron efectos de importancia sobre los pseudoeritroplástidos con irradiaciones, a excepción de una aparente distensión de la membrana celular. Este cambio permitió indicar que la permeabilidad de estas células anormales es diferente a la de los eritrocitos normales. Hemos comprobado, al igual que JORDAN, que la extirpación del bazo no modifica la anemia, lo que indica que la causa determinante no está posiblemente localizada en este órgano eritropoyético. Otros factores que tampoco afectaron el proceso fueron la extirpación parcial o total del hígado (38) y la eliminación de los pulmones (24), procedimientos que hemos realizado por otros motivos.

Muchas interpretaciones pueden ser propuestas para explicar el origen de la anemia pseudoeritroplástica. NIGRELLI (35) en 1929 sospechó la existencia de un factor de tipo alimenticio en vista de que en los tritones alimentados con hígado no se observó anemia severa. Los resultados de nuestros estudios con el ácido fólico y la vitamina B_{12} parecen excluir la deficiencia de estos factores como causa primaria de este tipo de anemia. No hemos podido establecer el papel que desempeñan los factores endocrinológicos y hereditarios en la anemia pseudoeritroplástica. Estos no se deben excluir, pero es muy difícil investigar tritones genéticamente puros porque una generación, hasta la madurez, tarda tres años.

Observaciones sobre tritones infectados por hemosporidios semejantes a *Babesia* (21) nos hacen sospechar que la hemoglobina de los eritrocitos que comienzan a transformarse en pseudoeritroplástidos esté modificada. Esos parásitos, llamados *Babesiosoma (Dactylosoma) jahni,* se encuentran en todas las clases de células que contienen hemoglobina, a excepción de los pseudoeritroplástidos juveniles (25). Puede ser que la ausencia de los parásitos en estas células sea debida a una distinta constitución de la hemoglobina de los mismos, semejante a la que se observa en la meniscocitemia, en la cual no hay infección palúdica de los meniscocitos. La infección de *Babesiosoma jahni* en los tritones parece ser rara (diez o doce casos en más de mil animales) y éstos no se pueden emplear como animales experimentales para otros estudios.

En esta oportunidad, discutiremos también el problema de los glóbulos rojos no nucleados en los animales de sangre fría. Estas células, eritroplástidos, se encuentran esporádicamente en los anfibios. En una familia de urodelos (Plethodontidae) éstos son extraordinariamente numerosos (hasta 95 por ciento),

hecho conocido desde hace mucho tiempo y descrito detalladamente por EMMEL (14). En los peces y en las tortugas, el aumento del número de los eritroplástidos se encuentra usualmente asociado con dificultades respiratorias. En los peces tropicales, *Lebistes reticulatus,* sujetos a temperaturas excesivamente altas, hemos observado anisocitosis y poiquilocitosis, con eritroplástidos muy numerosos. Hemos también observado condiciones similares en otros peces con lesiones parasitarias en las branquias. En una tortuga marina con hemorragia severa de los pulmones, el frote de sangre reveló gran número de estos elementos no-nucleados.

Un hecho interesante es que, trabajando con los tritones sujetos a neutrones térmicos por 12 horas, hemos observado grandes cantidades de eritroplástidos (22). En los pulmones de estos animales se observó edema, y la condición general de estos órganos indicó que los tritones obtenían oxígeno por otras vías, probablemente por vía cutánea, lo que es típico en los anfibios. Teniendo en mente el hecho de que los urodelos de la familia Plethodontidae, en los cuales se encuentran muchos eritroplástidos, no poseen pulmones en la fase adulta, hemos procedido a extirpar pulmones de *Diemictylus viridescens* normales. En esta forma creíamos simular experimentalmente las condiciones presentes en los tritones sujetos a los neutrones térmicos y las condiciones típicas de los Plethodontidae.

A pesar de que los tritones sobrevivieron esta operación (36), el efecto deseado no se produjo (24). En consecuencia, los factores que causan la producción anormal de los eritroplástidos en los animales de sangre fría no están completamente claros y tienen que ser estudiados más detalladamente.

Deseamos mencionar también una técnica, muy divulgada en las investigaciones clínicas, que promete ser importante para la hematología comparada. Estudios con la electroforesis sobre el papel demostraron diferencias específicas en la composición del suero entre los varios grupos de vertebrados (7, 43, 46). Por ejemplo, la diferencia entre el suero humano y el de los peces consiste en una diferente proporción de la albúmina y de las globulinas (11). Estas últimas se modifican durante el desarrollo de los peces (12) y de los anfibios (15). Modificaciones de la hemoglobina fueron también observadas en aves de edad diferente (26), así como en varios vertebrados parasitados (44) y normales (42).

En conclusión, debemos recalcar que los estudios de hematología comparada en los vertebrados inferiores no tienen valor directo en la hematología clínica. Sin embargo, estos estudios son indispensables, ya que el uso de animales de sangre fría se ha generalizado mucho en las investigaciones médicas y farmacológicas. Además, la hematología comparada contribuirá a la comprensión del mecanismo de la hematopoyesis típica y anormal del hombre y de otros animales. Finalmente, los estudios de este tipo constituyen fuente de mucho valor para el conocimiento de los principios fundamentales de la biología.

RESUMEN

La autora hace una revisión histórica y bibliográfica de la hematología comparada, y comenta la nomenclatura de esta disciplina haciendo notar la importancia del proceso hematopoyético en la producción de tipos análogos pero no homólogos de células en los distintos grupos de vertebrados. Comenta especialmente los problemas planteados por la anemia pseudoeritroplástica del tritón *Diemictylus viridescens* y, finalmente, el problema de eritrocitos no nucleados en vertebrados de sangre fría en condiciones normales y anormales, estas últimas siempre relacionadas con dificultades respiratorias o con temperaturas excesivamente elevadas.

SUMMARY

A historic and critical review is made of comparative hematology; its nomenclature is discussed, stressing the importance of the hematopoietic process in the production of analogous but not homologous types of cells in different vertebrate groups. Special discussion is made of the problems of pseudoerythroplastic anemia in *Diemictylus viridescens* and of enucleated red cells in cold-blooded vertebrates in normal and abnormal circunmstances: the latter usually related to respiratory difficulties or abnormally high temperatures.

BIBLIOGRAFIA

1. BABUDIERI, B.
   1930. Studi de ematologia comparata. Ricerche sui pesci, sugli anfibi e sui rettili. *Haematologica Arch.*, 11: 199-255.

2. BARRETT, W. C.
   1936. A comparative survey of hemopoietic loci in urodele amphibia, with special reference to the bone marrow of the Plethodontida. *Folia Haemat.*, 54: 165.

3. BARRETT, W. C.
   1947. Haematopoiesis in the European plethodontid, *Hydromantes italicus*, with reference to phylogeny. *Anat. Rec.*, 98: 127-136.

4. CHARIPPER, H. A. & A. B. DAWSON
   1928. Direct division of erythrocytes and the occurrence of erythroplastids in the circulating blood of *Necturus*. *Anat. Rec.*, 39: 301-313.

5. DAWSON, A. B.
   1930. Differentiation and multiplication by mitosis of cells of the erythrocytic series in the circulating blood of several normal urodeles. *Anat. Rec.*, 45: 177-187.

6. DAWSON, A. B.
   1933. The relative numbers of immature erythrocytes in the circulating blood of several species of marine fishes. *Biol. Bull.*, 64: 33.

7. DESSAUER, H. C. & WADE FOX
1956. Characteristic electrophoretic patterns of plasma proteins of orders of Amphibia and Reptilia. *Science,* 124: 225-226.

8 DOWNEY, H.
1909. The lymphatic tissue of the kidney of *Polyodon spathula. Folia Haematol.,* 8: 415.

9. DOWNEY, H.
1911. The origin and structure of the plasma cells of normal vertebrates, especially of the cold blooded vertebrates, and the eosinophils of the lung of *Amblystoma. Folia Haematol.,* 11: 275.

10. DOWNEY, H.
1913. The granules of the polymorphonuclear leucocytes of *Amblystoma,* with a few notes on the spindle cells and erythrocytes of this animal. *Anat. Anz.,* 44: 309.

11. DRILHON, ANDRÉE
1954. Etude biologique de quelques protides sériques de sangs de poissons au moyen de l'électrophorese sur papier. *C. R. Soc. Biol.,* 148: 1218-1220.

12. DRILHON, ANDRÉE, J. FINE, J. URIEL & FRANÇOISE LE BOURDELLES
1956. Etude électrophoretique des constituants du sérum de l'anguille. *C. R. Ac. Sci.,* 243: 1802-1805.

13. EBERHARDT, E.
1907. *Über die zellformen des Blutes und Bindegewebes bei den Schildkröten.* Dissert. St. Petersburg.

14. EMMEL, V. E.
1924. Studies on the non-nucleated cytoplasmic elements of the blood. II. The occurrence and genesis of non-nucleated erythrocytes or erythroplastids in vertebrates other than mammals. *Am. J. Anat.,* 33: 347.

15. FRIEDEN, E., A. E. HERNER, L. FISH & E. J. CASSON LEWIS
1957. Changes in serum proteins in amphibian metamorphosis. *Science,* 126: 559-560.

16. GULLIVER, G.
1845. *On the size of the red corpuscles of the blood in the vertebrata, with copious tables of measurements.* Part. XIII: 93-102.

17. GULLIVER, G.
1862. On the red corpuscles of the blood of vertebrata, and on the zoological import of the nucleus, with plans of their structure, form, and size (on a uniform scale) in many different orders. *Proc. Zool. Soc. London,* 91-103.

18. GULLIVER, G.
1875. Observations on the size and shape of the red corpuscles, with drawings of them to a uniform scale, and extended and revised tables of measurements. *Proc. Zool. Soc. London,* 474.

19. HAYEM, G.
1879. Recherches sur l'évolution des hematies dans le sang l'homme et des ver-

tebres. II. Sang des vertébrés à globules rouges nucléés. III. Historique. *Arch. de Physiol. norm. et pathol.* Ser. 2, 6: 201.

20. JAKOWSKA, SOPHIE & R. F. NIGRELLI
1952. Further studies on atypical blood elements in anemic newts, *Triturus viridescens*. *Caryologia,* IV: 281-288.

21. JAKOWSKA, SOPHIE & R. F. NIGRELLI
1955. A taxonomic re-evaluation of *Dactylosoma* Labbé, a babesioid in cold-blooded vertebrates. *J. Protozool.,* 2 (Suppl.): 8.

22. JAKOWSKA, SOPHIE & R. F. NIGRELLI
1955. Erythroplastid formation in *Triturus viridescens* exposed to thermoneutrons. *Radiation Research,* 3: 236-237.

23. JAKOWSKA, SOPHIE
1956. Morphologie et nomenclature des cellules du sang des Teleosteens. *Revue d'Hemat.,* 11: 519-539.

24. JAKOWSKA, SOPHIE, C. PHILIPPI & R. F. NIGRELLI
1956. Blood studies on pneumectomized and splenectomized newts (*Diemyctylus viridescens*). *Anat. Rec.,* 125: 645.

25. JAKOWSKA, SOPHIE & R. F. NIGRELLI
1956. *Babesiosoma* gen. nov. and other Babesioids in erythrocytes of cold-blooded vertebrates. *Ann. New York Acad. Sci.,* 64: 112-127.

26. JOHNSON, V. L. & J. S. DUNLAP
1955. Electrophoretic separation of hemoglobins from the chicken. *Science,* 122: 1186.

27. JORDAN, H. E.
1933. The evolution of blood-forming tissues. *Quart. Rev. Biol.,* 8: 58-76.

28. JORDAN, H. E.
1938. Comparative hematology. (en *Handbook of hematology.* Ed. Hal Downey. New York, Paul B. Hoeber, Inc. Section XII, 2: 703-862).

29. JORDAN, H. E.
1938. Blood-cell change during experimental nutritional deficiency anemia and recovery in the newt, *Triturus viridescens,* with special reference to the erythrocytes. *J. Morphol.,* 63: 143-161.

30. MANASSEIN, W.
1872. *Über die Dimensionen der roten Blutkörperchen unter verschiedenen Einflüssen.* Inaug. Diss., Tübingen.

31. MARQUIS, C.
1892. *Das Knochenmark der Amphibia in den verschiedenen Jahreszeiten.* Dorpat.

32. MAXIMOW, A.
1906. Über entzündliche Bindegewebsneubildung beim Axolotl. *Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path.,* 39: 334.

33. MAXIMOW, A.
1910. Über embryonale Entwicklung der Blutzellen bei Selachiern und Amphibien. *Anat. Anz.*, 37: 64.

34. METCHNIKOFF, E.
1893. *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation.* París.

35. NIGRELLI, R. F.
1929. Atypical erythrocytes and erythroplastids in the blood of *Triturus viridescens. Anat. Rec.*, 43: 257-269.

36. PHILIPPI, C., L. HAUSLER, H. BIAL & SOPHIE JAKOWSKA
1956. Survival of newts (*Diemictylus viridescens*) following lung ligation and extirpation. *Anat. Rec.*, 125: 656.

37. PONDER, E.
1934. Length-breadth correlation in the red cells of the trout. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 24: 149-151.

38. PRATT, J. L., SOPHIE JAKOWSKA & R. F. NIGRELLI
1957. Hyperplasia of the perihepatic granulocytopoietic tissue in hepatectomized newts. *Anat. Rec.*, 128: 603.

39. RAWITZ, B.
1899. Über die Blutkörperchen einiger Fische. *Arch. f. mikr. Anat.*, 54: 481.

40. REDFIELD, A. C.
1933. The evolution of the respiratory function of the blood. *Quart. Rev. Biol.*, 8: 31-57.

41. REZNIKOFF, P. & D. G. REZNIKOFF
1934. Hematological studies in dogfish (Mustelus canis). 1. The normal blood picture and the effect of removal of blood and of turpentine injections. *Biol. Bull.*, 66: 115-123.

42. RODNAN, G. P. & F. G. EBAUGH
1957. Paper electrophoresis of animal hemoglobins. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 95: 397-401.

43. SCHINAZI, L. A.
1957. Observations on a fast-moving protein in avian malarial serum. *Science*, 125: 695-696.

44. STAUBER, L. A.
1954. Application of electrophoretic techniques in the field of parasitic diseases. *Exp. Parasitology*, 3: 544.

45. WAGNER, R.
1833. Neue Beobachtungen über und Lymphkörnchen der verschiedenen Tiere. *Isis*, 26: 1011.

46. WALL, R. L. & H. G. SCHLUMBERGER
1957. Electrophoresis of plasma proteins in the parakeet. *Science*, 125: 993-994.

47. WEIDENREICH, F.
1905. Studien über das Blut und die blutbildenden und zerstörenden Organe. III. Über den Bau der Amphibien Erythrozyten. *Arch. f. mikr. Anat.*, 66: 270.

48. WERZBERG, A.
1911. Studien zur vergleichenden Haemozytologie einiger poikilothermer Vertebraten. *Folia Haematol.*, 2: 17.

49. WHARTON, J.
1846. The blood-corpuscle considered in its different phases of development in the animal series. *Phil. Trans. Royal Soc. London*, 1846: 63.

50. YOFFEY, J. M.
1929. A contribution to the study of the comparative histology and physiology of the spleen, with reference chiefly to its cellular constituents. I. In fishes. *J. Anat.*, 43: 314.

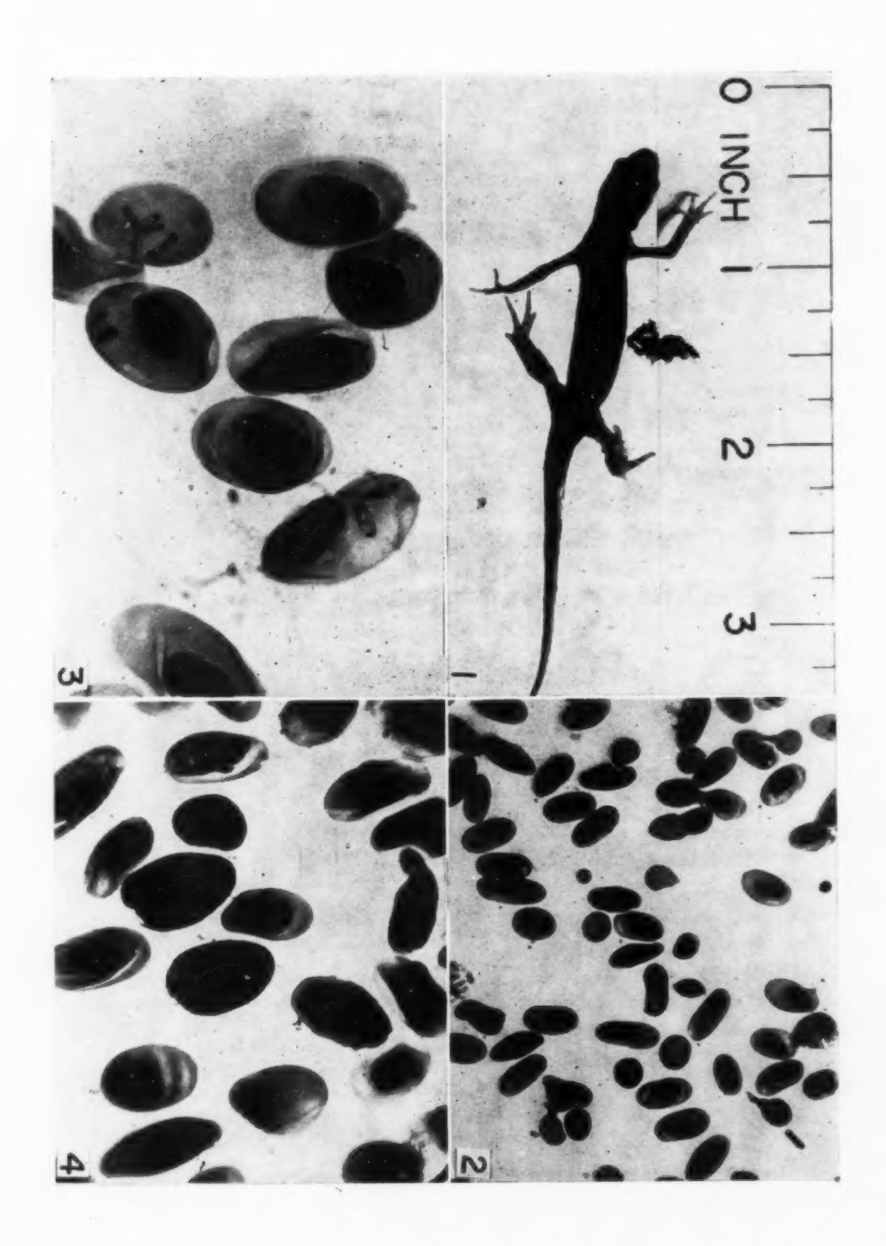
Fig. 1: *Diemictylus* (*Triturus*) *viridescens*, el urodelo de manchas rojas del oriente de Estados Unidos.

Figs. 2-4: Frotis de sangre, tinción de Wright.

Fig. 2: Fragmentación de eritroplástidos después de expuestos a neutrones térmicos, 400 ×.

Fig. 3: *Babesiosoma jahni*, infección en eritrocitos y eritroplástidos circulantes, 1100 ×.

Fig. 4: Anemia pseudoeritroplástica. Nótense los núcleos agrandados que desplazan a la hemoglobina, 850 ×.


0 INCH 1 2 3
1
2
3
4

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 157-189, 1959

Dermatofitosis en Costa Rica.

I. Observaciones sobre 76 casos*

por

Grace G. de Mata y Leonardo Mata**

(Trabajo recibido para su publicación el 11 de Septiembre de 1959)

A las infecciones por dermatofitosis se les ha comenzado a dar, de unos años a esta parte, la importancia que realmente tienen, no sólo en el campo de la Micología Médica sino también en el de la Salud Pública.

No existe entre nuestros profesionales relacionados con la dermatología, un conocimiento detallado de las especies ocurrentes y predominantes en el territorio de Costa Rica, ni de su relación con los diversos cuadros clínicos o las conexiones epidemiológicas existentes entre el tipo de dermatofito y las áreas del cuerpo afectadas.

La revisión de la literatura existente en nuestro país nos ha indicado que fue PICADO (29) en 1915 quien primero refirió dos casos de dermatofitosis, a juzgar por las fotografías de las lesiones y de las escamas de las mismas que muestran el micelio del hongo. A pesar de que no se identificó ninguna especie, la evidencia del material fotográfico nos basta para considerar estos casos como tiñas. ROTTER (32) en 1934 presentó al Segundo Congreso Médico Centroamericano su informe "Micosis en Costa Rica" en el que menciona varios tipos clínicos de dermatofitosis (*favus, herpes tonsurans* y *trichophytia*) y la presencia de *Achorion schoenleinii, Trichophyton tonsurans* y *Microsporum felineum* en nuestro medio. Hasta la fecha no hemos observado *favus* ni comprobado la existencia de *Trichophyton schoenleinii*. En 1940 BOLAÑOS (5) comunicó 5 casos de tiña e incriminó al *M. lanosum* de ser el agente etiológico;

---

* Trabajo realizado en el Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, Costa Rica.

** Sección de Bacteriología, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala.

sugirió además que las dermatofitosis no eran frecuentes y que era posible que las infecciones provinieran de animales importados al país. ROMERO y CASTRO (30) en 1948, publicaron trece nuevos casos de tiña de la cabeza que fueron tratados con acetato de talio. Clínicamente reconocieron tres formas: "microspórica a pequeñas placas", "microspórica a grandes placas" y "a grandes placas de pelada"; en lo concerniente a la investigación micológica sólo se practicó examen directo demostrándose el parasitismo de tipo *endothrix*. En 1953, RUIZ (33) comunicó un caso de *tinea unguium* producido por *Microsporum gypseum* aportando excelente material al conocimiento de nuestras dermatofitosis. VIETO (34) en 1955 realizó la primera investigación de un pequeño brote de *tinea capitis* entre escolares del Zapote (San José), encontrando cuatro casos de un mismo grupo escolar con parasitismo de los pelos tipo *microsporum*. Para concluir, JIMÉNEZ-QUIRÓS (23) reporta haber observado un predominio alto de "pie de atleta" entre la población pre-universitaria, sin que se haya realizado hasta la fecha una investigación etiológica al respecto.

De la bibliografía revisada se desprende que poco se ha hecho sobre el tema en nuestro país, por lo que nuestra intención es comunicar algunas observaciones clínicas, epidemiológicas y micológicas en 76 pacientes tiñosos, con el fin de aportar material para el mejor conocimiento de las dermatofitosis en Costa Rica.

MATERIAL Y METODO

El estudio abarcó la observación de 76 pacientes positivos ya al examen directo del material de las lesiones, ya al cultivo, o con ambas condiciones a la vez. Los enfermos fueron enviados al Laboratorio por los médicos dermatólogos de las Consultas y Servicios del Hospital para su estudio. Los casos no fueron seleccionados adrede, sino que se tomaron todos los observados desde 1957 hasta marzo de 1959, descartándose aquellos que presentaron negativo el examen directo y el cultivo a la vez. En una fórmula especial se recogieron los siguientes datos: nombre, edad, sexo, localidad, ocupación; localización y edad de la infección; cuadro clínico, resultado del examen directo, del cultivo y otros datos que se consideraran de interés.

Como criterio de clasificación de las formas clínicas seguimos el enunciado por CONANT *et al.* (10), considerando, para efectos de tabulación en los casos en que se presentó más de una forma clínica, a uno de los cuadros como principal, de acuerdo con su gravedad o con referencias que obtuvimos del médico o del paciente mismo.

El examen directo se llevó a cabo removiendo las escamas o porciones de piel con bisturí y los pelos mediante pinzas pequeñas, aclarando el material con hidróxido de potasio al 10 por ciento y observando luego al microscopio. Tanto en los casos positivos como en los negativos al examen directo, se hizo rutinariamente un cultivo en agar Sabouraud y en agar actidiona-cloromicetina (1). Ocasionalmente se emplearon el agar bilis de buey de LITTMAN (25) y

el medio de GOLDMAN (21). Las placas sembradas con el material y selladas con tela adhesiva, se incubaron a la temperatura del laboratorio para ser observadas dos veces por semana y las colonias típicas o sospechosas se transplantaron a terreno fresco para su estudio definitivo. Las placas negativas se guardaron un máximo de 6 semanas.

La identificación final de los cultivos se hizo con base en la morfología colonial y microscópica y también mediante un estudio fisiológico cuando fue necesario. En ciertas ocasiones se usó el agar harina de maíz-dextrosa para incrementar la producción de pigmento por parte del *Trichophyton rubrum,* como recomiendan BOCOBO y BENHAM (4), el medio de arroz (10) para inducir la esporulación de cultivos pleomórficos o en vías de pleomorfización y el agar mosto (11) para incrementar el desarrollo de esporas. Además se comparó el crecimiento de varias cepas en el agar harina de maíz y agar infusión de corazón-dextrosa. El estudio microscópico se realizó tomando una porción de una colonia para montarla en lactofenol y, cuando fue preciso, se hizo cultivo en lámina por la técnica de Rivalier y Seydel, en cuyo caso se inocularon tres láminas que se sacaron del frasco de Coplin a los 8, 15 y 22 días de incubación a la temperatura del laboratorio.

Las características fisiológicas de los cultivos se estudiaron siguiendo las recomendaciones que sobre este aspecto han hecho GEORG y CAMP (19) y GEORG (18). En lo que atañe al estudio del poder queratinolítico sobre pelo humano *in vitro,* se siguió la técnica de AJELLO y GEORG (2).

Finalmente, las cepas identificadas hasta especie se transplantaron a agar Sabouraud en pie y se cubrieron con aceite mineral estéril para su conservación en la micoteca (3).

RESULTADOS

OBSERVACIONES CLINICAS

Del total de 76 casos que presentaban uno o más cuadros clínicos definidos de tiña, se aislaron 64 cultivos de dermatofitos sin demostrarse ninguna infección mixta. No observamos *tinea imbricata, tinea favosa* ni *tinea barbae* y creemos que las dos primeras condiciones no se presentan en nuestro medio. La distribución de los casos de acuerdo con el cuadro clínico puede apreciarse en el cuadro 1.

TINEA CAPITIS. Se estudiaron 28 casos (36,8% del total) exclusivamente en niños, distribuídos principalmente en el sexo masculino (75%). La edad de los pacientes osciló entre 2 y 10 años y el período de evolución de la lesión se extendió entre los límites de 10 días y 3 años.

Del total, 19 niños manifestaron lesiones secas descamativas poco molestas, con o sin alopecia, de las que casi siempre se aisló *Microsporum canis* (figs. 1B, 1C). Seis niños presentaron lesiones keriónicas (*Kerion Celsi*), elevadas, supurantes, inflamadas y dolorosas, solas o en número de dos, abarcando áreas

CUADRO 1

Distribución de las formas clínicas en 76 pacientes con dermatofitosis

Cuadro clínico	Número de casos
tinea capitis	23
tinea capitis + tinea corporis	5
tinea corporis	17
tinea corporis + tinea pedis	1
tinea corporis + tinea cruris	3
tinea corporis + tinea cruris + tinea unguium	1
tinea cruris	1
tinea cruris + tinea unguium + tinea corporis	1
tinea cruris + tinea axillaris + tinea corporis	1
tinea manus	3
tinea pedis	2
tinea pedis + tinea cruris	2
tinea pedis + tinea manus	1
tinea pedis + tinea unguium	1
tinea pedis + tinea unguium + tinea manus	1
tinea pedis + tinea cruris + tinea axillaris	1
tinea unguium	10
tinea unguium + tinea corporis	1
tinea unguium + tinea pedis + tinea manus + tinea corporis	1

de 2 a 5 cm. de diámetro (fig. 1A), y de las cuales se aislaron cuatro cepas de *Microsporum gypseum*, una de *Trichophyton rubrum* y una de *T. tonsurans*, esta última de un niño con lesiones en el cuerpo además de las de la cabeza. Los otros tres niños manifestaron lesiones "amiantiáceas" (asbestos-like tinea) que al cultivo dieron *Microsporum canis, Trichophyton tonsurans* y *T. verrucosum*. La tiña amiantiácea es una afección relativamente aguda que se caracteriza porque las zonas afectadas exudan ligeramente, formándose costras de color blanco-amarillento, húmedas, "olorosas a ratón" como ocurre con la *tinea favosa*, pero perfectamente bien caracterizada y diferenciable de ésta. La tabulación del aspecto clínico con referencia al agente etiológico puede verse en el cuadro 2.

CUADRO 2

Correlación entre el agente etiológico y el cuadro clínico en 28 casos de tinea capitis

Cuadro clínico	Nº de casos	Dermatofito	Nº de cepas
tinea capitis descamativa con o sin alopecia	15	*Microsporum canis*	15
tinea capitis "amiantiácea"	3	*Microsporum canis*	1
		Trichophyton tonsurans	1
		Trichophyton verrucosum	1
tinea capitis keriónica	5	*Microsporum gypseum*	4
		Trichophyton rubrum	1
tinea capitis keriónica + *tinea corporis*	1	*Trichophyton tonsurans*	1
tinea capitis + *tinea corporis*	4	*Microsporum canis*	2
		Microsporum gypseum	1
		Trichophyton tonsurans	1
TOTAL	28		28

TINEA CORPORIS. Fue la forma clínica observada mayor número de veces (31 pacientes), tanto en hombres como en mujeres, existiendo toda una gama de variación en cuanto a gravedad, sin que lográramos comprobar ningún caso de diseminación a las capas profundas de la piel. El aspecto indicó por lo menos dos grupos generales de lesiones. Uno, el clásico descrito como *tinea circinata* (figs. 1D, 2A, 2C) que se distingue por tener bordes circinados, ligeramente levantados, eritematosos y bien delimitados; el otro corresponde a zonas o placas extendidas, grandes, con abundante descamación, bordes no eritematosos y planos (fig. 2B); el primer tipo generalmente es agudo, mientras que el segundo es crónico. Las especies identificadas fueron, de acuerdo con su frecuencia, *Trichophyton rubrum, Microsporum gypseum, M. canis, T. tonsurans, T. verrucosum* y *T. mentagrophytes*.

TINEA CRURIS. Se presentaron 10 casos, generalmente acompañados de otros cuadros clínicos. El aspecto varió ampliamente desde los tipos agudos, con placas de bordes eritematosos y pustulados, muy pruriginosos (fig. 2D) hasta los cuadros crónicos, con zonas extensas cubiertas de finas escamas (fig. 2E).

Los dermatofitos aislados fueron *Trichophyton rubrum* (5 casos), *T. tonsurans, T. mentagrophytes* var. "vellosa" y *Epidermophyton floccosum* (un caso de cada uno); en dos pacientes no se pudo determinar el agente.

TINEA AXILLARIS. Sólo se estudiaron dos casos, asociados ambos a *tinea cruris* y cuyas lesiones fueron semejantes clínicamente a las de esa entidad; se aisló *Trichophyton rubrum.*

TINEA MANUS. Tres pacientes manifestaron este cuadro como única afección, y tres más tenían otra u otras formas clínicas asociadas. Se aislaron cuatro cepas de *Trichophyton rubrum* y una de *Epidermophyton floccosum,* y de un caso no se cultivó el hongo. En este tipo de tiña se encontró compromiso de una o ambas manos (fig. 3C), generalmente en las zonas palmares y a veces en el dorso. La gravedad fue variable, pero en general los pacientes se quejaron de molestias.

TINEA PEDIS. Se estudiaron 10 casos, generalmente con otras localizaciones (*tinea cruris, tinea unguium,* etc.) además de la tiña de los pies. La mayoría fueron lesiones leves, del tipo hiperqueratósico crónico con períodos de atenuación y exacerbación (fig. 3D). En pocas oportunidades observamos casos agudos (fig. 3E) con maceración profunda, dolor acentuado y mal olor. La *tinea pedis* se presentó principalmente en adultos; el único niño afectado tenía tres años de edad y contrajo la enfermedad desde los 6 meses; de este caso se aisló una cepa de *Trichophyton rubrum.* Los hongos identificados fueron *T. rubrum* (4 cepas), *T. mentagrophytes* (dos) y *Epidermophyton floccosum* (una); en tres casos no se determinó el agente.

TINEA UNGUIUM. Se presentaron 16 casos en adultos sin ninguna peculiaridad en la distribución en cuanto a sexo. La mayoría de las mujeres indicaron trabajar en oficios domésticos; los hombres trabajaban en las más diversas ocupaciones. El período de evolución de la tiña al momento del estudio fluctuó entre tres meses y 15 años, siendo la mayoría de las veces crónica. Gran parte de los pacientes no se quejaron de molestias, pero algunos pocos casos fueron dolorosos, inclusive con paroniquia. El número de uñas comprometidas varió desde una hasta todas las de las manos y los pies; en lo referente al cuadro clínico se presentaron variados matices ya que algunas uñas presentaron zonas blancas opacas en la base ("novias") (fig. 3A), mientras otras tenían abundantes detritos en el borde libre (fig. 3F) que podía estar resquebrajado o bien aparecer engrosado; la superficie presentaba estrías (fig. 3B) o estaba corrugada y engrosada (fig. 3G); el color fluctuó desde el blanco, crema o amarillo hasta el pardo oscuro. Con respecto a la etiología, casi la totalidad (diez casos) fueron a *Trichophyton rubrum;* se identificó una cepa de *T. tonsurans,* una de *Epidermophyton floccosum* y en los cuatro restantes no se pudo aislar el dermatofito.

OBSERVACIONES EPIDEMIOLOGICAS

La mayoría de las tiñas que comprometían las zonas cubiertas del cuerpo

se debieron a dermatofitos antropofílicos como *Trichophyton rubrum, T. tonsurans* y *E. floccosum;* las lesiones en las partes expuestas como cuero cabelludo, cara y brazos fueron producidas ya por especies zoofílicas (*Microsporum canis* y *T. verrucosum*) o por el dermatofito geofílico *M. gypseum.* Se identificó una cepa de *T. mentagrophytes* de una lesión en una pierna de un adulto, comprobándose que era la "variedad vellosa" característica del hombre.

No obstante la estrecha relación entre las especies zoofílicas y las áreas expuestas, por un lado, y la de los hongos antropofílicos y las áreas cubiertas por otro, se observaron varios casos en que la correlación no fue evidente desde el primer momento. En algunas ocasiones se identificaron hongos no antropofílicos en regiones cubiertas del cuerpo, pero siempre se encontró relación con lesiones de partes expuestas o se demostró contacto de las áreas afectadas con un animal enfermo (cuadro 3). Varios cuadros de *tinea capitis* fueron producidos por dermatofitos antropofílicos de donde se deduce que la infección se realizó por contacto directo o indirecto entre humanos.

En ningún caso de *tinea pedis, tinea unguium, tinea cruris, tinea manus* o *tinea axillaris* se logró aislar un dermatofito que no perteneciera al grupo antropofílico.

CUADRO 3

Relación entre la localización de las lesiones y el dermatofito identificado en 31 casos de tinea corporis

Zona del cuerpo afectada		Nº de casos	Dermatofito
Zonas no expuestas	abdomen, pecho, espalda, etc.	10	*T. rubrum*
	ídem	1	*T. tonsurans*
	abdomen y pecho	1	*M. canis*
	dorso	1	*M. gypseum*
Zonas cubiertas y descubiertas	cara y pecho	1	*M. canis*
	cara y dorso	1	*M. canis*
	cara y varias regiones del cuerpo	1	*T. tonsurans*
Zonas expuestas	cara	2	*T. verrucosum*
	cara	2	*M. gypseum*
	brazo	1	*M. gypseum*
	pierna	1	*T. mentagrophytes* var. vellosa
	cara y cabeza	1	*T. tonsurans*
	cara y cabeza	2	*M. gypseum*
	cara y cabeza	2	*M. canis*
tinea corporis		4	Desconocido

MICOLOGIA

EXAMEN DIRECTO DE ESCAMAS Y PELOS. Las escamas aclaradas con hidróxido de potasio mostraron en un buen número de casos cadenas de artrosporas y micelio de los dermatofitos (figs. 4A, 4B). Los pelos parasitados generalmente se desprendieron con facilidad y en ellos pudimos apreciar varios tipos de arreglo de las esporas. Generalmente en *tinea capitis* las esporas presentaron una disposición tipo *microsporum* (*Microsporum canis* y *M. gypseum*) (fig. 4D); en otras oportunidades se observó la disposición *endothrix* (*Trichophyton tonsurans*) y *ectothrix* "a esporas grandes" (*T. verrucosum*), así como la presencia de micelio interno y de burbujas dentro del pelo, como fue notado en un caso debido a *M. canis* (fig. 4C).

AISLAMIENTO PRIMARIO. De los medios usados rutinariamente en el aislamiento de los dermatofitos, agar Sabouraud y agar actidiona-cloromicetina, el último resultó ser el más ventajoso, sobre todo cuando se trataba de aislar hongos de *tinea pedis* y *tinea unguium*. A pesar del poder bacteriostático del medio con antibióticos, en varias ocasiones (sobre todo en *tinea unguium*) las placas se contaminaron con hongos y estafilococos resistentes.

El crecimiento en ambos medios varía ligeramente con la especie. *M. canis* crece mucho mejor y exhibe una morfología más típica en agar Sabouraud que en agar con antibióticos; *T. rubrum* por el contrario, desarrolla un pigmento rojo intenso más rápidamente en este último; el crecimiento de *M. gypseum* es algo más circunscrito en el agar con antibióticos. Tres cepas de *T. verrucosum* que se lograron identificar en este estudio crecieron bien en agar Sabouraud; las especies restantes, *T. mentagrophytes, T. tonsurans* y *E. floccosum* crecieron bien en ambos medios.

Se comparó experimentalmente el crecimiento de algunos dermatofitos en el agar de Littman y en el medio de Goldman, encontrándose que en el primero la morfología varía y el crecimiento de la colonia es mucho más lento, sobre todo en las tres primeras semanas de incubación; con respecto al medio de Goldman no encontramos sus ventajas si se compara con los usados rutinariamente. En los agares de harina de maíz, harina de maíz-dextrosa e infusión de corazón-dextrosa, el desarrollo es lento y a veces casi nulo, según la especie.

El número total de cepas aisladas durante este estudio fue 64, de las cuales 22 (34,4 %) correspondieron a *Trichophyton rubrum,* 21 (32,8 %) a *Microsporum canis,* 8 (12,5 %) a *M. gypseum,* 5 (7,8 %) a *T. tonsurans,* 3 (4,7 %) a *T. mentagrophytes,* 3 (4,7 %) a *T. verrucosum* y 2 (3,1 %) a *Epidermophyton floccosum.*

MORFOLOGÍA DE LOS CULTIVOS. *Microsporum canis* Bodin. Es un dermatofito de rápido desarrollo que a las dos o tres semanas de incubación presenta una superficie lisa, algodonosa o aterciopelada, blanca, en algunas zonas amarillenta (Maerz & Paul 11-J-7) (27), anaranjada (Maerz & Paul 11-J-11) y en ocasiones parduzca en el centro; los bordes son irregulares, generalmente ciliados; el reverso es liso o presenta surcos radiados a partir del centro que no llegan a los bordes; el pigmento va desde naranja pálido hasta rojo parduzco

(fig. 5A). Microscópicamente hay presencia de micelio septado y ramificado en el cual se observa a menudo micelio en raqueta y clamidosporas; hay tambien a veces hifas pectinadas, cuerpos nodulares y raramente estructuras espirales. Se presentan microconidias en pequeña cantidad (en algunas cepas no las observamos) a lo largo de las hifas y tienen forma de maza o son semibacilares; las macroconidias son numerosas en el cultivo primario, en forma de huso y con varios septos, generalmente de 5 a 8, a veces 10 y con paredes gruesas y ásperas (fig. 5B).

Microsporum gypseum (Bodin) Guiart & Grigorakis. La colonia es de rápido crecimiento, tornándose muy pronto pulverulenta o granulosa, de superficie lisa color crema (Maerz & Paul 12-B-8); los bordes son irregulares, a veces festoneados o ciliados; el reverso se presenta liso, con pigmento no difusible que varía entre el pardo amarillento y el pardo rojizo (fig. 5C). Microscópicamente se ven numerosas macroconidias grandes elipsoides (fig. 5D) de dimensiones menores que las de *M. canis* y de paredes más finas pero ásperas, con múltiples septos, generalmente de 4 a 6. Las microconidias se presentan en la mayoría de las cepas en el cultivo primario, pero es posible encontrar cultivos viejos que todavía producen microconidias en buena cantidad.

Trichophyton mentagrophytes (Robin) Blanchard. Dos de las cepas estudiadas son de tipo "velloso" y la otra es la variedad "granulosa". Las colonias vellosas son de rápido desarrollo, de superficie algodonosa, de color blanco a crema y bordes irregulares; el reverso presenta algunos pliegues hacia el centro, con pigmento que varía entre el pardo y el pardo-naranja. La colonia granulosa es de color blanco-crema (Maerz & Paul 9-B-1); presenta una depresión central pequeña, tiene bordes irregulares y el reverso plegado ligeramente. Microscópicamente la cepa granulosa presenta enorme cantidad de esporas, mientras que las cepas vellosas casi no tienen. Se observan abundantes espirales (fig. 6C), clamidosporas, cuerpos nodulares y microconidias que son pequeñas, esféricas en su mayoría y a veces clavadas (fig. 6A). Las macroconidias se presentan en escaso número, sobre todo en las cepas vellosas en las que difícilmente se observaron; su forma es alargada, de paredes finas, con 3 a 6 septos, y a menudo con el extremo libre ligeramente más abultado que el extremo fijo (fig. 6B).

Trichophyton rubrum (Castellani) Sabouraud. Todos los cultivos de esta especie desarrollaron colonias rápidamente, de superficie lisa, algodonosa y blanca, con bordes irregulares, a veces ciliados. El reverso es liso, con pigmento difusible raramente amarillo-naranja o anaranjado y generalmente rojo pálido hasta cereza oscuro; en algunas ocasiones el borde de la colonia toma el color intenso del reverso. Los cultivos viejos presentan una superficie aterciopelada pudiendo ser también granulosa (figs. 6D, 6E). La morfología microscópica revela gran cantidad de micelio y algunas pocas microconidias ovoides o clavadas, elipsoides o globosas, que se disponen a lo largo de las hifas o en racimos en hifas terminales (figs. 6F, 6G); las macroconidias raramente se observan y son alargadas y multiseptadas, de paredes finas y lisas.

Trichophyton tonsurans Malmsten. Las cepas de esta especie son de crecimiento moderado; la colonia es plana al principio y luego presenta pliegues

que le dan un aspecto cerebriforme, crateriforme o acuminado. La superficie es aterciopelada, con micelio aéreo fino con una coloración que varía desde el crema (Maerz & Paul 9-D-1) hasta el pardo (Maerz & Paul 12-E-7), (fig. 7A). Microscópicamente se ven clamidosporas, espirilos, cuerpos nodulares y numerosas microconidias piriformes dispuestas en tirsos o en racimos (figs. 7B, 7C); también se observan casualmente macroconidias de 3 a 4 células, generalmente clavadas aunque pueden presentar diversidad de formas (fig. 7D). La producción de macroconidias se acentúa en cultivos en agar mosto.

Trichophyton verrucosum Bodin. Las colonias de esta especie presentan crecimiento moderado, a pesar de que con el tiempo las dimensiones son semejantes a las de otros dermatofitos, con excepción de *Microsporum canis* y *M. gypseum*. La superficie colonial es aterciopelada, cerebriforme, de color crema (Maerz & Paul 10-D-1) y bordes irregulares; el reverso es muy plegado, de color anaranjado oscuro sin que haya difusión de pigmento. Microscópicamente se observan solamente micelio y numerosas clamidosporas (fig. 7E), sin que se desarrollen macro ni microconidias en los medios usuales. En medios suplementados con inositol se desarrollaron microconidias clavadas o bacilares (fig. 7F). No se observaron macroconidias.

Epidermophyton floccosum (Harz) Langeron & Milochevitch. La colonia típica se desarrolla en los primeros cultivos. Es de crecimiento rápido, con una zona central algodonosa y surcos radiales tenues que con la edad de los cultivos desaparecen, llenándose la superficie de micelio abundante algodonoso de color blanco-crema o crema amarillento (Maerz & Paul 9-D-1) (fig. 8A). El reverso es liso y de color anaranjado parduzco. El pigmento típico amarillo verdoso fue observado únicamente en los cultivos primarios. Al microscopio se observan clamidosporas y macroconidias en forma de huevo, globosas, con uno o dos septos que nacen a lo largo de las hifas, solas o en grupos característicos (fig. 8B); también se encuentran al final de las hifas. En cultivos muy jóvenes se observan conidias pequeñas piriformes o clavadas que pueden ser confundidas con microconidias, pero que son macroconidias en desarrollo (fig. 8C) puesto que esta especie carece de microconidias.

Estudio fisiológico. Todos los cultivos de *Trichophyton rubrum* produjeron pigmento rojo característico en el agar harina de maíz-dextrosa, mientras que las tres cepas de *T. mentagrophytes* no lo produjeron.

Las cepas de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* se probaron en agar nitrato de amonio con ácido nicotínico y sin él, sin que ninguna de ellas mostrara requerimientos para esa vitamina.

Los tres cultivos de *T. verrucosum* se probaron en una serie de cuatro tubos (caseína, caseína + tiamina, caseína + inositol y caseína + tiamina + inositol) demostrándose que todas requieren inositol para su desarrollo, pero no tiamina, lo que puede explicar el haber aislado estas cepas en agar no fortificado (fig. 8E).

Los dermatofitos *T. tonsurans* (5 cepas), *T. rubrum* (22 cepas) y *T. mentagrophytes* (3 cepas) se probaron en una serie de dos tubos (caseína y

caseína + tiamina) encontrándose que los dos últimos son autotróficos para la tiamina, mientras que *T. tonsurans* la requiere (fig. 8D).

Todos los cultivos sospechosos o dudosos en cuanto a su clasificación, así como cepas pleomórficas se probaron en agar nitrato de amonio con ácido nicotínico y en agar nitrato de amonio con histidina sin encontrar cepas que necesitaran estas vitaminas.

Finalmente se realizaron pruebas de crecimiento *in vitro* sobre pelo humano estéril con todas las cepas de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum,* encontrándose que las primeras producen órganos perforantes, mas no así *T. rubrum* (fig. 8H). Otros dermatofitos como *M. canis* y *E. floccosum* producen perforaciones iguales a las de *T. mentagrophytes* (figs. 8F, 8G).

CONSERVACIÓN DE LOS CULTIVOS Y PLEOMORFIZACIÓN. Las cepas se guardaron en la micoteca lo más pronto posible bajo aceite mineral estéril. Bajo estas condiciones un buen número de cultivos de todas las especies se pleomorfizaron conforme se transplantaban de nuevo a terreno fresco. *M. canis* mostró más alteraciones que los demás dermatofitos y también *E. floccosum* y *T. mentagrophytes,* pero no tanto *M. gypseum, T. tonsurans* y *T. verrucosum.*

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis de la literatura costarricense demuestra la escasez de estudios en el campo de las dermatofitosis y la necesidad de trabajar y hurgar más en este interesante problema.

A pesar del pequeño número de pacientes considerados en el presente estudio, se puede concluir que las dermatofitosis son frecuentes en todas las localidades de nuestro país y en todas las edades y ocupaciones de los individuos. Una gran parte de los enfermos no se presenta a la consulta hospitalaria por diversas causas, y otros son tratados sin haberse realizado la investigación micológica.

Los hallazgos clínicos fueron semejantes a los encontrados por otros autores. Los tipos generales de lesión observados en el cuero cabelludo fueron la tiña seca descamativa con o sin alopecia, el *Kerion Celsi* (lesiones agudas, inflamatorias y supurantes) y formas "amiantáceas". En las tiñas del cuerpo se distinguieron las lesiones pequeñas de bordes delimitados, ligeramente levantados y eritematosos y las crónicas grandes, de bordes planos, no eritematosos. Las tiñas de los pies fueron generalmente crónicas e hiperqueratósicas, aunque se observaron varios casos agudos con maceración profunda y contaminación bacteriana. La *tinea cruris* y tiña de la axila mostraron el mismo aspecto clínico, muy semejante al observado en la *tinea corporis.* En cuanto al aspecto clínico de las onicomicosis, varió mucho en cuanto a número de uñas parasitadas y forma y color de las mismas.

La *tinea corporis* fue la forma observada mayor número de veces, siguiéndole la tiña de la cabeza, uñas, regiones inguinales, pies, manos y axila. MACKINNON (26) en el Uruguay, al igual que nosotros, encontró mayor incidencia de

tinea capitis. BURKE y BUMGARNER (8) demostraron una relación semejante en un estudio hecho en 1000 veteranos de la guerra. WISSEL (35) demostró en un grupo de recluídos que la *tinea pedis* interdigital es el tipo de dermatofitosis que aparece con mayor frecuencia. Con respecto a este último punto, es probable que el pie de atleta predomine también en nuestro ambiente, ya que JIMÉNEZ-QUIRÓS (23) ha notado, de acuerdo a un estudio clínico, un índice bastante alto en los estudiantes universitarios. Por otro lado, el hecho de que un buen número de nuestros casos fueron acentuados o severos puede ser un indicio de que hay numerosas formas leves que escapan al estudio llevado a cabo en las consultas de hospital. El trabajo reciente de GIBSON (20) en Inglaterra, viene a fortalecer la idea de que la *tinea pedis* es considerablemente predominante en la población en general.

Considerando las formas combinadas, más del 70 por ciento de nuestros casos presentaron una sola forma clínica, en contraste con el resto que tenía dos o más tipos de dermatofitosis. La tiña de la cabeza y la de los uñas aparecieron solas con mayor regularidad, mientras que las combinaciones entre tiñas del cuerpo, pies y regiones inguinales ocurrieron a menudo. Datos similares han sido comunicados por BURKE y BUMGARNER (8).

No se encontró ningún caso de *tinea favosa* ni de *tinea imbricata* en este estudio y creemos que dichas formas no se presentan en Costa Rica.

Con referencia a los dermatofitos aislados, en *tinea capitis* se encontró según su orden, *Microsporum canis* (64.3 %), *M. gypseum* (17.8 %), *Trichophyton tonsurans* y *T. verrucosum*. Estudios realizados en otros países demuestran que *M. canis* es el agente más frecuente de tiña del cuerpo cabelludo, siendo menor o raro el aislamiento de *M. gypseum*, como lo indican CARRIÓN y SILVA (9), MACKINNON (26) y BORELLI (6).

La ausencia de *Microsporum audouinii* no implicó la de un pequeño brote epidémico observado por nosotros en cuatro pacientes (tres niños y su madre), infectados por *M. canis*. Un brote semejante en 12 personas que contrajeron la enfermedad posiblemente de un gatito fue descrito por FERGUSON (13) en los Estados Unidos.

En *tinea corporis* se aislaron *Trichophyton rubrum* (37 %), *Microsporum gypseum* (22.2 %), *M. canis* (14.8 %), *T. tonsurans*, *T. verrucosum* y *T. mentagrophytes*. Otros autores han encontrado una relación diferente; MACKINNON (26) demostró un predominio de *M. canis* y *M. gypseum* en lesiones de la piel glabra, mientras que BURKE y BUMGARNER (7) una mayor incidencia de *T. mentagrophytes*, dejando en segundo lugar a *T. rubrum*. El elevado porcentaje de casos por *T. rubrum* encontrado por nosotros en contraste con un único cultivo obtenido de *T. mentagrophytes* puede deberse a una paulatina disminución de éste último, como han sugerido MASKIN *et al.* (28). Es posible que la mayor incidencia de *T. rubrum* en comparación con los otros agentes se deba a la circunstancia de la infectividad de este hongo con relación a los hábitos de vida, puesto que ENGLISH (12) ha demostrado un considerable número de infecciones entre los "contactos" de tiñosos con *T. rubrum*.

En el resto de las formas clínicas se aislaron dermatofitos antropofílicos principalmente *T. rubrum* y con menos frecuencia *T. tonsurans.* Casi todos los casos de *tinea unguium* fueron debidos a *T. rubrum,* pero de uno de ellos se aisló *T. tonsurans* y de otro *E. floccosum.* GONZÁLEZ-OCHOA y OROZCO (22) en México encontraron una relación menor entre estos dos agentes y, al igual que nosotros, un porcentaje elevado de casos que dieron cultivo negativo.

Como se consiguió en los resultados, los hongos más incidentes, en general, fueron *T. rubrum* (34.4 %), *M. canis* (32.8 %) y *M. gypseum* (12.5 %). Se ha indicado en muchos países una elevada incidencia de *M. canis* y *T. rubrum* pero no de *M. gypseum,* hecho que aparentemente no sucede en nuestro medio.

No obstante que se han publicado infecciones mixtas en otras regiones (31) no fue posible determinar ninguna en Costa Rica.

De acuerdo con KAPLAN, GEORG y AJELLO (24), los hallazgos epidemiológicos concluyen en el sentido de que hay tres grupos generales de dermatofitos: antropofílico, zoofílico y geofílico, el primero de los cuales produce en el hombre el pie de atleta, la tiña inguinal y la tiña de las uñas principalmente; los dermatofitos zoofílicos y el geofílico (*M. gypseum*) infectan generalmente las partes expuestas del cuerpo. En nuestro estudio la mayoría de las lesiones en áreas no cubiertas como cráneo, cara, cuello y extremidades fueron causadas por *M. canis, T. verrucosum* y *T. mentagrophytes* (zoofílicos), o por el *M. gypseum* (geofílico), lo cual podría correlacionarse, desde el punto de vista epidemiológico, con la fuente de infección que sería los animales y el suelo.

De las tiñas de manos, uñas, pies y regiones crurales se aislaron únicamente especies antropofílicas, tales como *T. rubrum, T. tonsurans, T. mentagrophytes* y *E. floccosum.* A pesar de que la zona del cuerpo afectada nos puede sugerir el origen de la infección, pueden presentarse infecciones por dermatofitos de animales o del suelo en zonas cubiertas, o dermatofitos antropofílicos causando infecciones en áreas descubiertas. Esta última condición no es rara y como ejemplos pueden citarse las comunes onicomicosis debidas a *T. rubrum,* o la *tinea capitis* epidémica causada por *M. audouinii* y *T. tonsurans.*

El estudio micológico de las especies no indicó variaciones con respecto a lo clásicamente establecido. La observación de los pelos reveló en una infección por *M. canis* un arreglo de las esporas de tipo *endothrix,* hecho que ya había sido observado por FUENTES *et al.* en *M. gypseum* (14).

La comparación de los diversos medios para aislamiento de dermatofitos hizo resaltar la superioridad del agar actidiona-cloromicetina, aunque es recomendable inocular conjuntamente una placa de agar Sabouraud.

Morfológicamente las cepas aisladas siguieron los patrones de clasificación descritos por CONANT *et al.* (10) y por GEORG (15, 16, 17).

Concerniente al estudio del comportamiento fisiológico comprobamos que todas las cepas de *T. rubrum* produjeron pigmento rojo en el agar harina de maíz-dextrosa, como fue sustentado por BOCOBO y BENHAM (4). Las cepas de *T. verrucosum* fueron autotróficas para la tiamina pero no para el inositol,

mientras que las de *T. tonsurans* requirieron parcial o totalmente de tiamina para su desarrollo. Además, los cultivos de *T. rubrum, T. mentagrophytes* y algunos dudosos en su clasificación, fueron autotróficos para la histidina y el ácido nicotínico, lo que excluye la presencia de *T. megninii* y *T. equinum* entre nuestros cultivos. Las pruebas de crecimiento *in vitro* sobre cabello humano confirmaron lo establecido por AJELLO y GEORG (2) en cuanto a la diferenciación entre *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*. Además se encontró que *M. canis* y *E. floccosum* pueden formar órganos perforantes semejantes a los de *T. mentagrophytes*.

Una evaluación del estado de los cultivos guardados en la micoteca bajo aceite mineral estéril, indicó que la especie que tiende más a la pleomorfización es el *M. canis;* el otro extremo está ocupado por el *M. gypseum, T. tonsurans* y *T. verrucosum*. El *T. rubrum* casi siempre produjo colonias vellosas que con el tiempo perdían fácilmente la habilidad de formar microconidias y de producir el pigmento rojo.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su reconocimiento al Dr. Alfonso Trejos y al Lic. Hernán Badilla, jefes del Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, quienes permitieron la realización de este trabajo en el laboratorio a su cargo; al Prof. Renato Soto, quien aportó valiosas sugerencias y al Dr. John de Abate, quien amablemente revisó el manuscrito original.

RESUMEN

Se hicieron observaciones clínicas, epidemiológicas y micológicas en 76 casos comprobados de dermatofitosis que fueron examinados en 1957, 1958 y principios de 1959.

Se observaron todas las formas clínicas (exceptuando *tinea favosa, tinea barbae* y *tinea imbricata*) en el siguiente orden: *tinea corporis, tinea capitis, tinea unguium, tinea cruris, tinea pedis, tinea manus* y *tinea axillaris*. Alrededor del 30 por ciento de los pacientes presentaron dos o más cuadros combinados, pero no se logró descubrir ninguna infección causada por dos o más dermatofitos.

Los hongos aislados, según su frecuencia, fueron: *T. rubrum, M. canis, M. gypseum, T. tonsurans, T. mentagrophytes, T. verrucosum* y *E. floccosum*. La mayoría de las lesiones en regiones descubiertas del cuerpo se debieron a dermatofitos de los grupos zoofílico y geofílico, mientras que aquellas de zonas no expuestas generalmente fueron causadas por hongos antropofílicos.

Morfológicamente, los cultivos encajaron en los patrones ya establecidos. El estudio fisiológico indicó que el *T. rubrum* desarrolla fácilmente pigmento rojo en el agar harina de maíz-dextrosa, pero no así el *T.mentagrophytes*. El *T. tonsurans* manifestó requerimiento parcial o total de tiamina, mientras que el *T. verrucosum*, requerimiento total de inositol. Ninguna cepa fue estimulada

por el ácido nicotínico ni por la histidina. Tanto el *T. mentagrophytes* como el *M. canis* y *E. floccosum* fueron capaces de producir (*in vitro*) perforaciones en el cabello humano; el *T. rubrum* no perforó el pelo.

SUMMARY

Clinical, epidemiological and mycological observations were made on 76 overt cases of dermatophytosis which were examined in 1957, 1958 and early 1959.

All clinical forms were observed (except *tinea favosa* and *tinea imbricata*) in the following order of frequency: *tinea corporis, tinea capitis, tinea unguium, tinea cruris, tinea pedis, tinea manus* and *tinea axillaris*. Around 30 per cent of the patients showed two or more combined forms, but it was not possible to detect any infection which was caused by two or more dermatophytes.

The isolated fungi were, according to their frequency, *T. rubrum, M. canis, M. gypseum, T. tonsurans, T. mentagrophytes, T. verrucosum* and *E. floccosum*. The majority of the lesions in exposed areas of the body were due to dermatophytes of the zoophilic and geophilic groups, while those lesions in unexposed areas were generally caused by anthropophilic fungi.

Morphologically, the cultures matched well established patterns. The physiologic study indicated that *T. rubrum* produces red pigment in corn meal-dextrose agar easily, not so *T. mentagrophytes*. *T. tonsurans* showed partial or total requirement for inositol. No strain was stimulated either by nicotinic acid or histidine. *T. mentagrophytes* as well as *M. canis* and *E. floccosum* were capable of producing *in vitro* perforations in the human hair. *T. rubrum* did not perforate the hair.

BIBLIOGRAFIA

1. AJELLO, L.
1957. Cultural methods for human pathogenic fungi. *J. Chronic Diseases*, 5: 545-551.

2. AJELLO, L. & L. K. GEORG
1957. In vitro hair cultures for differentiating between atypical isolates of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. *Mycopath. et Mycol. app.*, 8: 3-17.

3. AJELLO, L., V. Q. GRANT & M. A. GUTZKE
1951. Use of mineral oil in the maintenance of cultures of fungi pathogenic for humans. *Arch. Derm. Syph.*, 63: 747-749.

4. BOCOBO, F. C. & R. W. BENHAM
1949. Pigment production in the differentiation of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. rubrum*. *Mycologia*, 41: 291-302.

5. BOLAÑOS, L.
1940. Nuevos casos de micosis diagnosticados en el Laboratorio del Hospital San Juan de Dios. *Rev. Méd. Costa Rica*, 7: 182-187.

6. BORELLI, D.
1957. Micosis de Venezuela. *Rev. Inst. Salubridad & Enferm. Trop.*, 17: 129-139.

7. BURKE, R. C. & F. E. BUMGARNER
1949. Superficial mycosis of veterans. I. Survey of one thousand veterans with a service diagnosis of dermatomycosis. *Arch. Dermat. Syph.*, 60: 742-749.

8. BURKE, R. C. & F. E. BUMGARNER
1949. Superficial mycosis of veterans. II. Dermatophytosis and cutaneous moniliasis. Correlation of clinical manifestations and etiologic agent. *Arch. Dermat. Syph.*, 60: 1120-1129.

9. CARRIÓN, A. L. y M. SILVA
1946. Ringworm del cuero cabelludo en Puerto Rico. *Bol. Asoc. Med. Puerto Rico*, 38: 274-303.

10. CONANT, N. F., D. T. SMITH, R. D. BAKER, J. L. CALLAWAY & D. S. MARTIN
1954. *Manual of Clinical Mycology*. 2d. ed. vii + 456 pp. W. B. Saunders Co. Philadelphia.

11. DIFCO LABORATORIES INC.
1953. *Difco Manual*. 9th ed. 350 pp. Detroit, Michigan.

12. ENGLISH, M. P.
1957. *Trichophyton rubrum* infections in families. *Brit. Med. Jour.*, 1957: 744-746.

13. FERGUSON, E. H.
1958. Epidemic due to *Microsporum canis*. *A. M. A. Arch. Dermat.*, 78: 506.

14. FUENTES, C. A., R. ABOULAFIA & R. J. VIDAL
1954. A dwarf form of *Microsporum gypseum*. *J. Invest. Dermat.*, 23: 51-61.

15. GEORG, L. K.
1950. The relation of nutrition to the growth and morphology of *Trichophyton faviforme*. *Mycologia*, 42: 693-716.

16. GEORG, L. K.
1954. The relationship between the downy and granular forms of *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Invest. Dermat.*, 23: 123-141.

17. GEORG, L. K.
1956. Studies on *Trichophyton tonsurans*. II. Morphology and laboratory identification. *Mycologia*, 48: 354-370.

18. GEORG, L. K.
1957. *Dermatophytes. New methods in classification*. Undécimo Congreso Internacional de Dermatología, Estocolmo, Agosto 1°

19. GEORG, L. K. & L. B. CAMP
1956. Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. *J. Bact.*, 74: 113-121.

20. GIBSON, M. D
1959. Studies in the epidemiology of *tinea pedis*. I. *Tinea pedis* in school children. *Brit. Med. J.*, 1: 1442-1446.

21. GOLDMAN L.
1954. A new method for the rapid identification of dermatophytes. *J. Lab. & Clin. Med.*, 44: 655-660.

22. GONZÁLEZ-OCHOA, A. & V. OROZCO
1957. Dermatofitos causantes de "tinea unguis" en México. *Rev. Inst. Salubr. & Enferm. Trop.*, 17: 93-95.

23. JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.
1959. Epidermofitosis de los pies (pie de atleta) en pre-universitarios. *Rev. Biol. Trop.*, 7 (2): 199-202.

24. KAPLAN, W., L. K. GEORG & L. AJELLO
1958. Recent developments in animal ringworm and their public health implications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 70: 636-649.

25. LITTMAN, M. L.
1947. A culture medium for the primary isolation of fungi. *Science*, 106: 109-111.

26. MACKINNON, J. E.
1949. Estadística sobre 1.000 casos de micosis cutáneas en el Uruguay y determinación de las especies causantes. *An. Inst. Hig. Montevideo*, 3: 83-94.

27. MAERZ, A. & M. R. PAUL
1950. *A Dictionary of Color*. 2d. Ed. vii + 208 pp. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.

28. MASKIN, I. L.; C. L. TASCHDJIAN & A. C. FRANKS
1957. The etiology of dermatophytosis. *A. M. A. Arch. Dermat.*, 75: 66-69.

29. PICADO, C.
1915. Primera contribución al conocimiento de las micosis en Costa Rica. *Anales del Hospital de San José*, 1: 1-21.

30. ROMERO, A. & A. CASTRO
1948. Trece casos de tiña tratados con acetato de talio. *Rev. Méd. Costa Rica*, 8: 197-199.

31. ROSENTHAL, S. A., D. FISHER & D. FURNARI
1958. A localized outbreak in New York of *tinea capitis* due to *Trichophyton violaceum*. *A. M. A. Dermat.*, 78: 689-691.

32. ROTTER, W.
1935. Micosis en Costa Rica. *Memorias del 2° Congreso Médico Centroamericano. San José, C. R.*, Octubre de 1934. págs. 196-203.

33. RUIZ, A.
1953. Un caso de *tinea unguium* producido por *Microsporum gypseum* (Bodin) Guiart *et* Grigorakis, 1928. *Rev. Biol. Trop.*, 1: 33-37.

34. VIETO, P.
1955. Comunicación personal.

35. WISSEL, K.
1956. Studien zur Epidemiologie und Therapie der Fussmykosen. *Dermatologica*, 113: 156-179.

Fig. 1: A - *Kerion Celsi* producido por *M. gypseum*.
B, C y D - Tiñas de la cabeza (B y C) y de la piel glabra (B y D) causadas por *M. canis*.

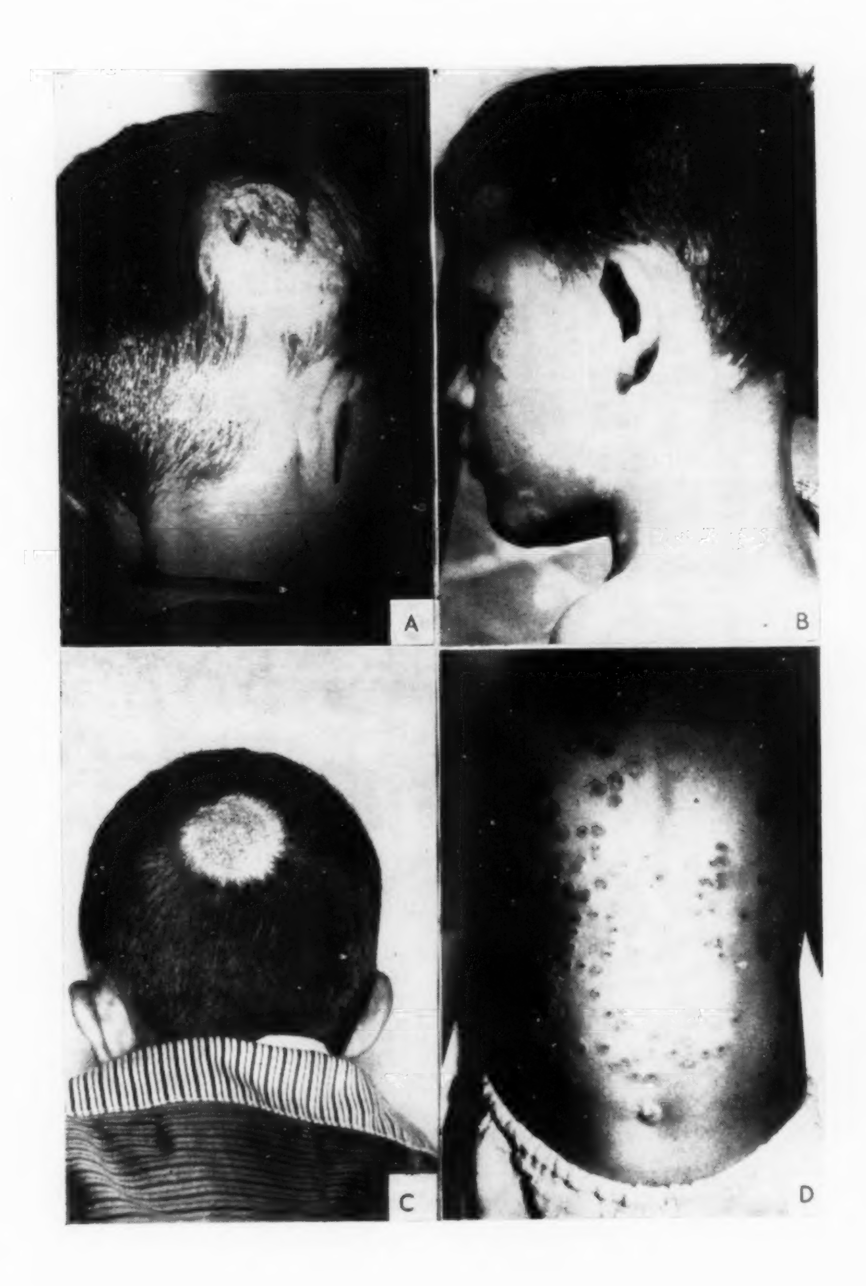

A
B
C
D

Fig. 2: A, B, C y E - Tiñas de la piel glabra producidas por *T. rubrum* (A, B y E) y por *M. canis* (C); el caso 2E presenta también *tinea cruris*.
D - *Tinea cruris* de 8 días de evolución causada por *T. tonsurans*.


A
B
C
D
E

Fig. 3: A, B, F y G - Diversos casos de *tinea unguium* producidos por *T. rubrum*.
C - *Tinea manus*.
D, E y G - *Tinea pedis* hiperqueratósica (D), aguda con maceración profunda (E) y de tipo interdigital (G).

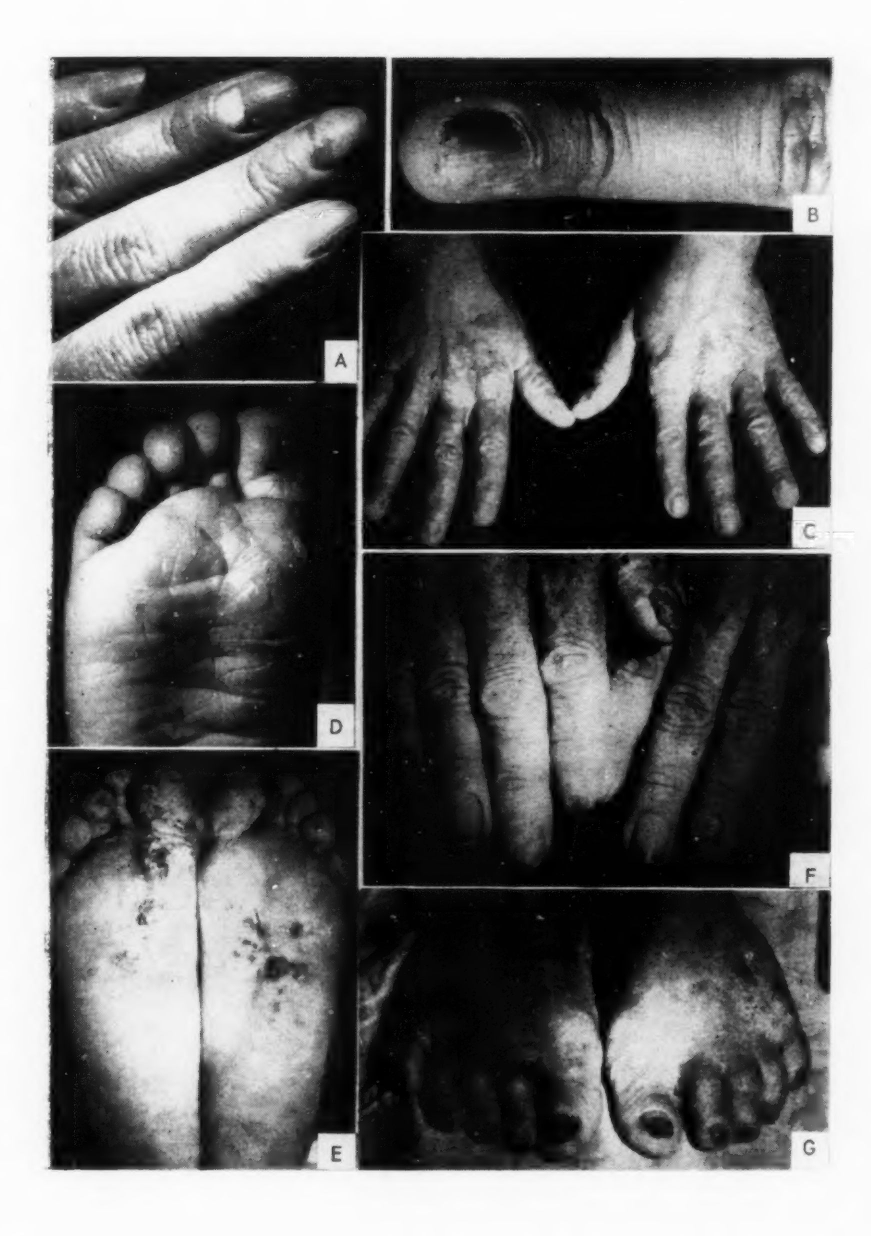

A
B
C
D
E
F
G

Fig. 4: A y B - Aspecto microscópico de escamas aclaradas con hidróxido de potasio mostrando artrosporas (A, 450 x) y micelio del dermatofito (B, 200 x).
C, D y E - Aspecto de pelos separados de *tinea capitis* mostrando: micelio y burbujas en un caso por *M. canis* (C, 200 x), el arreglo de las esporas característico de *Microsporum* (D, 450 x) y filamentos del dermatofito sobre el pelo (E, 700 x).

(Las microfotografías A, D y E son cortesía del Prof. F. L. Vieto).

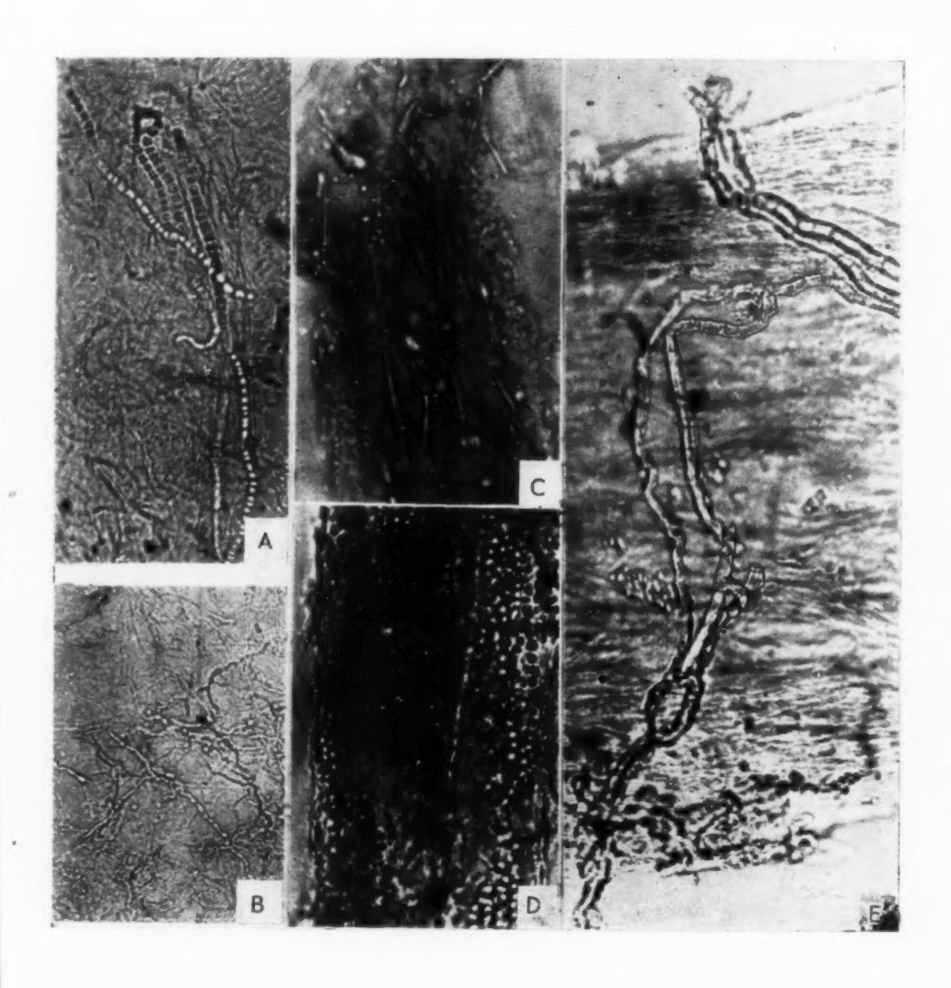

A
B
C
D
E

Fig. 5: A y B - *Microsporum canis*. Diferentes tipos coloniales en agar Sabouraud (A) y morfología microscópica que muestra microconidias alargadas y macroconidias fusiformes típicas (B, 525 x).
C y D - *Microsporum gypseum*. Aspecto de una colonia de tipo granuloso de 15 días de desarrollo (C, 2 x) y cultivo en lámina observado con contraste de fase (D, 125 x).

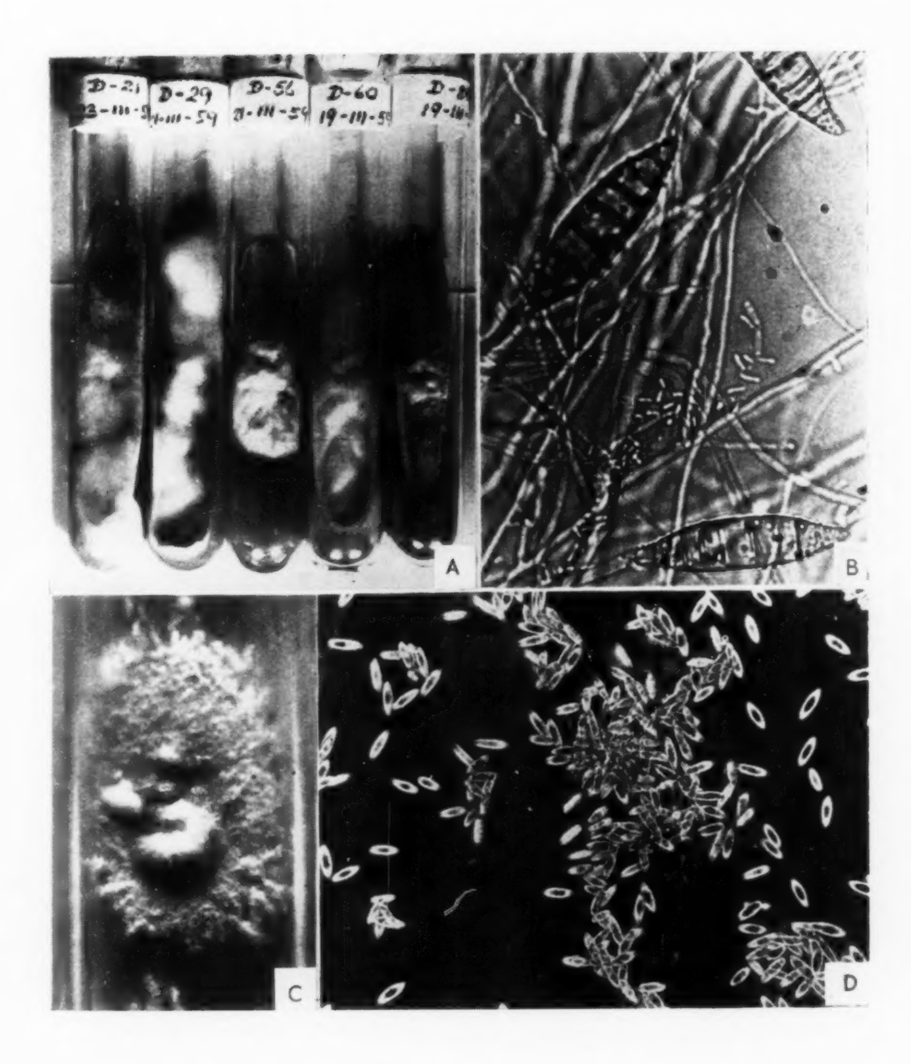

D-29
D-60
A
B
C
D

Fig. 6: A, B y C - *Trichophyton mentagrophytes*. Morfología microscópica que muestra clamidosporas y microconidias (A, 312 x), una típica macroconidia (B, 525 x) y una estructura espirilar (G, 525 x).
D, E, F, G y H - *Trichophyton rubrum*. Colonias de 15 días de desarrollo de dos cepas diferentes (D y E, 2 x) y aspecto microscópico que denota la presencia de microconidias en clava, piriformes y esféricas (F, G y H, 525 x).

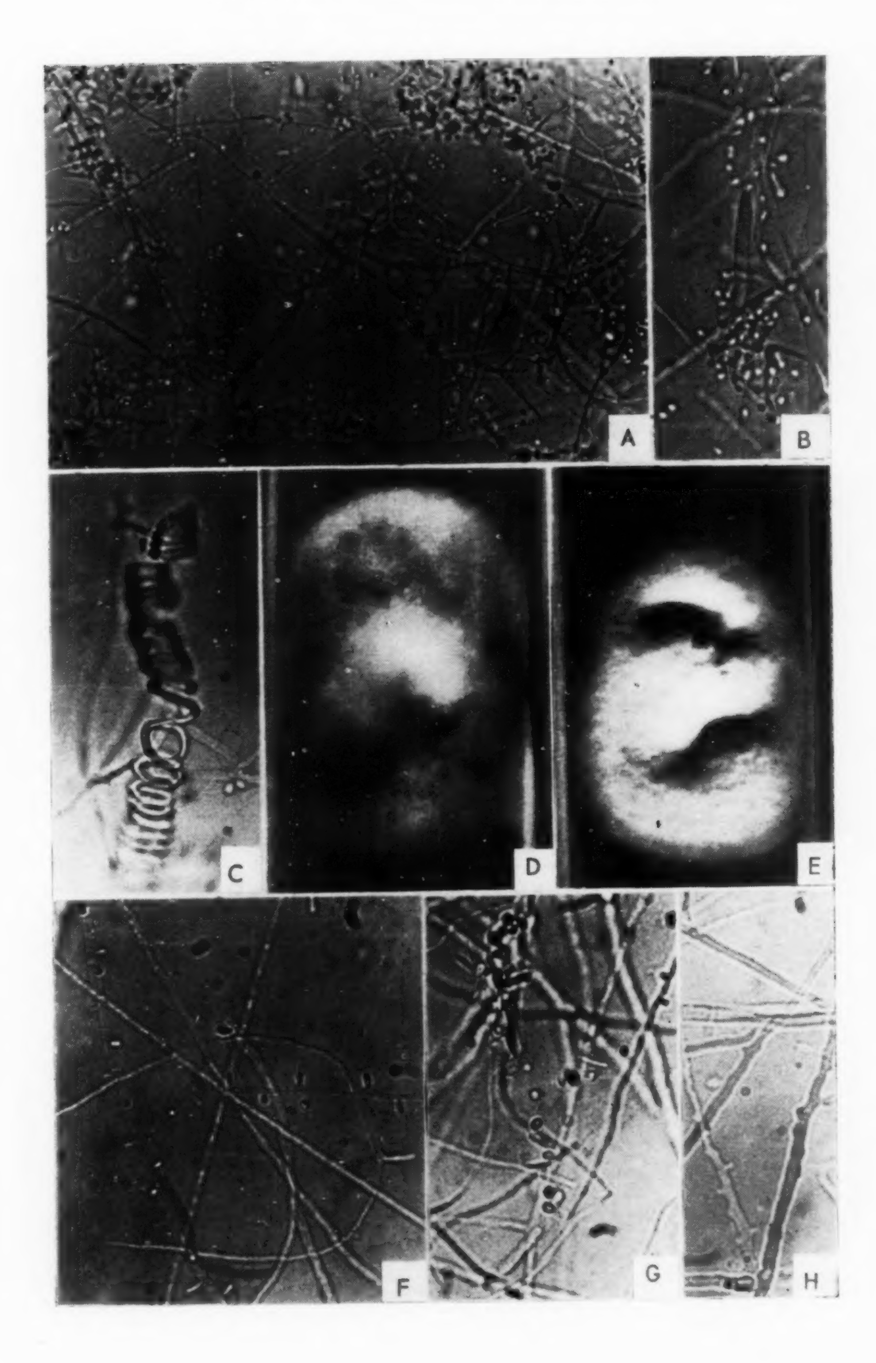

A
B
C
D
E
F
G
H

Fig. 7: A, B, C y D - *Trichophyton tonsurans*. Varios tipos de colonia en agar Sabouraud (A) y morfología microscópica que muestra las microconidias características (B, contraste de fase, 450 x), clamidosporas (C, 525 x) y una macroconidia (D, 525 x).
E y F - *Trichophyton verrucosum*. Aspecto microscópico de un cultivo (E, 525 x) y microconidias desarrolladas en agar caseína-inositol (F, 525 x).

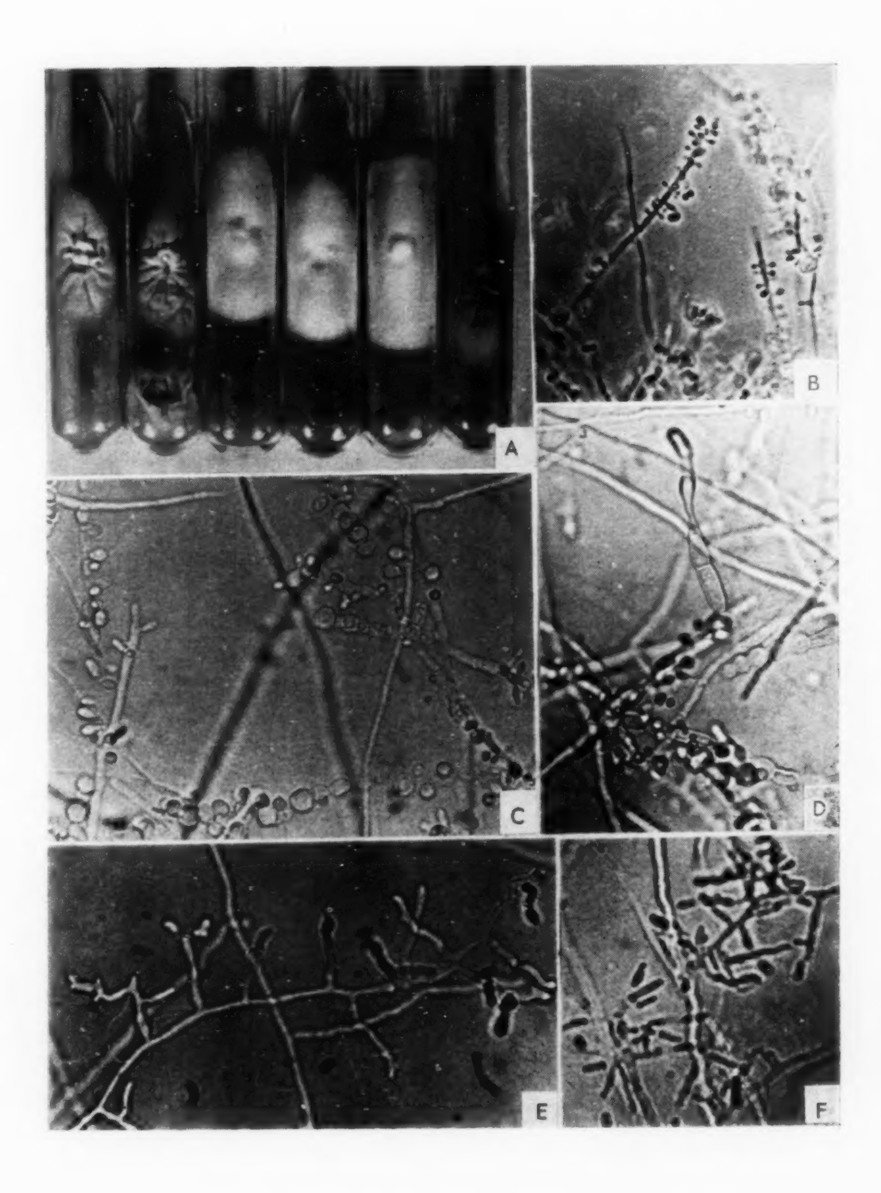
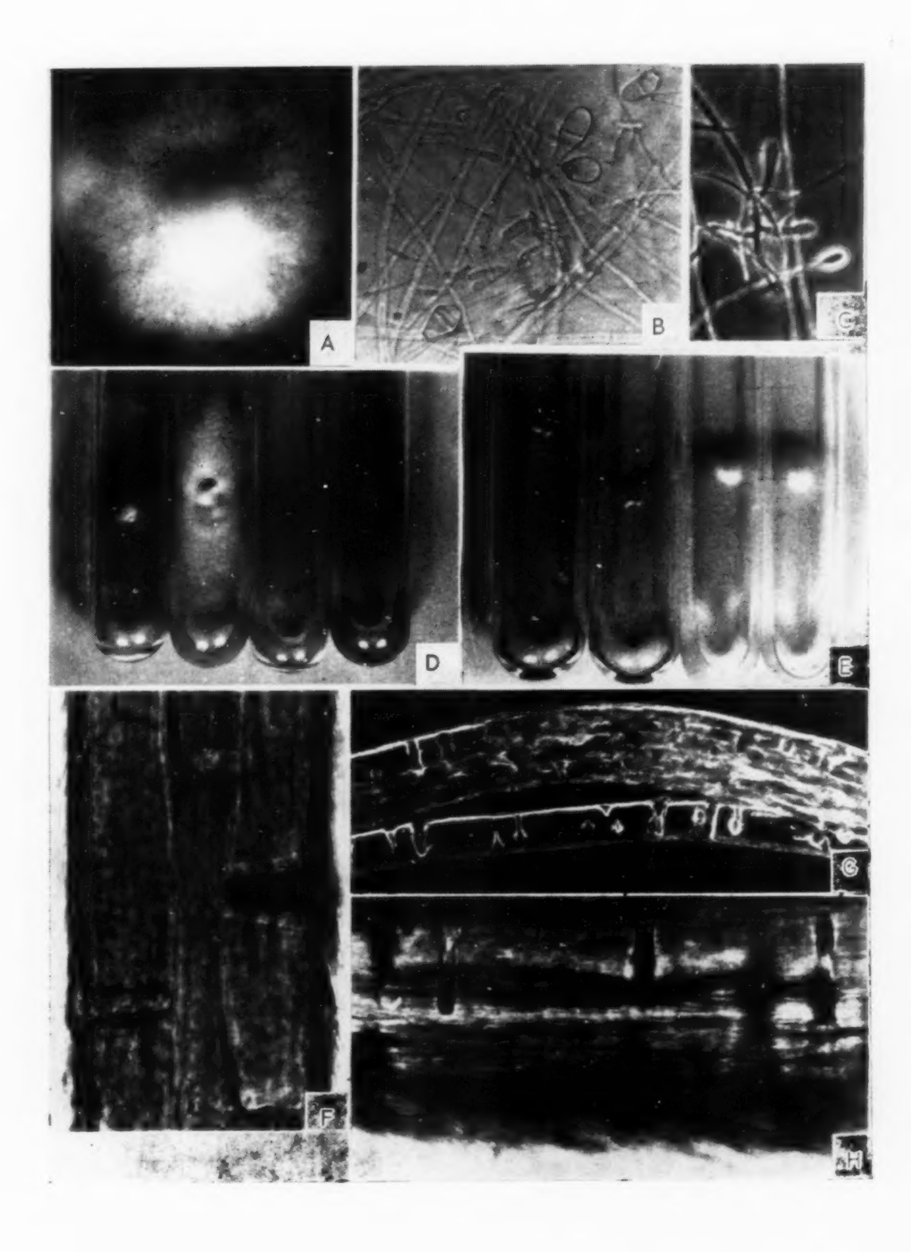

A
B
C
D
E
F

Fig. 8: A, B y C - *Epidermophyton floccosum.* Aspecto de una colonia de 8 días de incubación (A, 2 x) y de las macroconidias típicas (B, 525 x) que pueden semejar microconidias cuando jóvenes (C, contraste de fase, 330 x).
D - Prueba de dos tubos (agar caseína: tubos 1 y 3 agar caseína + tiamina: tubos 2 y 4) realizada con dos cepas de *T. tonsurans* morfológicamente diferentes, que indica el requerimiento parcial (tubos 1 y 2) o total (tubos 3 y 4) de esta vitamina.
E - Prueba de 4 tubos (de izquierda a derecha: agar caseína, agar caseína + tiamina, agar caseína + inositol y agar caseína + tiamina + inositol) realizada en una cepa de *T. verrucosum,* que denota su requerimiento de inositol, pero no de tiamina.
F, G y H - Prueba de crecimiento *in vitro* sobre cabello humano que evidencia numerosas perforaciones producidas por *M. canis* (F, 500 x) *E. floccosum* (G, campo oscuro, 500 x) y *T. mentagrophytes* (H, 525 x).


A
B
C
D
E
F
G
H

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 191-197, 1959

Helmintos de la República de Costa Rica XIII

Algunos tremátodos de **Rana pipiens**. Descripción de **Glypthelmins facioi** n. sp.

por

Rodrigo Ramón Brenes* | Guido Arroyo Sancho**
Otto Jiménez-Quirós* y Enrique Delgado Flores**

(Recibido para su publicación el 28 de septiembre de 1959)

El presente trabajo constituye una nueva contribución realizada en colaboración entre la Universidad de Costa Rica y el Ministerio de Agricultura e Industrias, para un mejor conocimiento de la fauna helmintológica de nuestro país.

Familia.—DIPLODISCIDAE Skrjabin, 1949

Subfamilia.—*Diplodiscinae* Cohn, 1904

Megalodiscus temperatus (Stafford, 1905) Harwood, 1932

Tremátodos coniformes que miden 2,681 a 4,500 mm de largo por 0,916 a 0,971 mm en su mayor anchura. La cutícula es gruesa, ligeramente transparente y sin espinas. El acetábulo fuertemente musculoso y muy desarrollado, mide 1,108 a 1,737 mm de largo por 0,642 a 1,162 mm de ancho. No se observó la papila acetabular. La ventosa oral es grande, terminal y más larga que ancha; mide 0,252 a 0,437 mm de diámetro antero-posterior por 0,238 a 0,410 mm de diámetro transversal. Los divertículos orales miden 0,150 a 0,190 mm de largo

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.
** Laboratorio de Investigaciones Médico-Veterinarias del M. A. I., Costa Rica.

por 0,095 a 0,115 mm de ancho; el esófago mide 0,341 a 0,642 mm de largo por 0,054 a 0,061 mm de ancho. El bulbo esofágico es muy conspicuo y mide 0, 129 a 0,205 mm de largo por 0,088 a 0,136 mm de ancho.

Los ciegos intestinales son sinuosos y se extienden desde el arco bifurcal hasta la altura del acetábulo; el ciego izquierdo mide 1,532 a 2,667 mm de largo por 0,916 mm de ancho; el derecho mide 1,491 a 2,394 mm de largo por 0,971 mm de ancho.

El poro genital se localiza hacia la derecha de la extremidad posterior de la bolsa del cirro y casi a nivel de la bifurcación del esófago. La bolsa del cirro es pequeña y situada en la parte media, inmediatamente debajo del arco bifurcal y enfrente del poro genital.

Los dos testículos son intercecales, globulosos, con bordes ligeramente irregulares y dispuestos oblicuamente a ambos lados de la línea media longitudinal del parásito; el testículo anterior mide 0,265 a 0,287 mm de largo por 0,136 a 0,300 mm de ancho, el posterior mide 0,287 a 0,311 mm de largo por 0,184 a 0,273 mm de ancho.

El ovario es ovoideo, intracecal y situado debajo del testículo posterior; mide 0,170 a 0,218 mm de diámetro anteroposterior por 0,156 a 0,246 mm de ancho.

El útero está constituído por numerosos repliegues que se extienden un poco adelante de la región anterior del acetábulo, siempre intracecal y termina en el poro genital; en su interior se observan los huevecillos que miden 0,072 a 0,095 mm de largo por 0,021 a 0,037 mm de ancho.

Las glándulas vitelinas están formadas por 10 a 11 folículos y se extienden desde el borde anterior del testículo anterior hasta un nivel un poco inferior al del ovario, tanto intra como extracecal.

Igualmente, en nuestros ejemplares, no pudimos observar la vesícula excretora.

HUÉSPED. *Rana pipiens* Schreber, 1782.

LOCALIZACIÓN. Intestino grueso y recto.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica.

EJEMPLARES. En la colección de Helmintología del Laboratorio de Investigaciones Médico-Veterinarias del M. A. I. con el Nº 50-8 y en la del Laboratorio de Helmintología, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología con el Nº 200-21.

DISCUSIÓN. Nosotros consideramos muy útil la excelente clave de las especies del género *Megalodiscus* Chandler, 1923, propuesta por BRAVO-HOLLIS en 1941 (1) y es así como nuestros ejemplares han sido determinados como *Megalodiscus temperatus* (Stafford, 1905) Harwood, 1932 con base en la extensión de los folículos vitelinos, desde el borde anterior del testículo anterior hasta la región posterior del ovario. A pesar de que SKRJABIN (4) considera a *Megalodiscus montezumae* Travassos, 1934 como especie válida, creemos, al

igual que BRAVO-HOLLIS que esta especie debe ser considerada como sinónimo de *M. temperatus.*

Familia.—PLAGIORCHIIDAE Lühe, 1901

Subfamilia.—*Plagiorchinae* Pratt, 1902

Glypthelmins facioi n. sp.*

Tremátodos alargados con su extremidad posterior más aguzada que la anterior; miden 3,225 a 3,816 mm de largo por 0,834 a 0,861 mm de ancho. La cutícula está cubierta de pequeñas espinas, más evidentes en la región anterior, desde donde disminuyen en número hasta desaparecer a nivel de los testículos; miden 0,006 mm de largo por 0,003 de ancho.

La ventosa oral es subterminal y mide de 0,293 a 0,300 mm de largo por 0,293 mm de ancho; el acetábulo se encuentra situado por delante de los testículos y en el tercio anterior del cuerpo, más pequeño que la ventosa oral y mide 0,163 a 0,177 mm de largo por 0,156 a 0,163 mm de ancho. La relación entre los diámetros de las dos ventosas es aproximadamente de 2:1.

La faringe es musculosa y globosa, más ancha que larga, mide 0,115 a 0,136 mm de largo por 0,204 a 0,218 mm de ancho; el esófago es corto y mide de 0,136 a 0,204 mm de largo por 0,102 mm de ancho. Los ciegos intestinales se extienden lateralmente próximos a los bordes cuticulares, para terminar cerca de la extremidad posterior. El ciego derecho es ligeramente más largo y mide 2,626 a 2,850 mm de largo por 0,122 a 0,150 mm de ancho; y el izquierdo 2,366 a 2,803 mm de largo por 0,115 mm de ancho.

La distancia del ciego derecho a la extremidad posterior varía entre 0,184 a 0,272 mm y la del izquierdo de 0,293 a 0,341 mm.

Los testículos están situados un poco hacia adelante de la línea media longitudinal del tremátodo, son redondos, de bordes regulares y dispuestos oblicuamente; el diámetro del testículo derecho es de 0,286 a 0,320 mm; y el del izquierdo de 0,334 a 0,341 mm. El ovario es subesférico, pre-testicular y cubre en parte el borde inferior derecho del acetábulo, mide de 0,195 a 0,204 mm de diámetro longitudinal. La bolsa del cirro es alargada y se desplaza de derecha a izquierda, por delante del acetábulo y bordeando parcialmente su borde superior; mide de 0,347 a 0,451 mm de largo por 0,095 a 0,163 mm de ancho.

Las glándulas vitelinas se extienden desde la bifurcación de los ciegos hasta un nivel ligeramente posterior a los testículos; están constituídas por numerosos folículos extracecales, cecales e intracecales, cuyo número varía entre

---

* Tenemos el agrado de dedicar esta especie al señor Rector de la Universidad de Costa Rica, Lic. Rodrigo Facio B., incansable propulsor de la investigación científica en la Institución.

49 y 51. El útero se extiende desde el extremo posterior y está constituído por numerosas asas uterinas, generalmente extracecales, continuándose en un metratermo que desemboca en el poro genital, a nivel de la extremidad de la bolsa del cirro. Los huevecillos son muy numerosos y miden 0,033 a 0,047 mm de largo por 0,020 a 0,021 mm de ancho.

HOSPEDERO. *Rana pipiens* Schreber, 1782.

LOCALIZACIÓN. Intestino delgado.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica.

EJEMPLARES. Paratipos en la colección de Helmintología del Laboratorio de Investigación Médico-Veterinarias del M. A. I. con el N° 50-4 y tipo en la del Laboratorio de Helmintología, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, con el N° 200-22.

DISCUSIÓN. SKRJABIN (5) al efectuar la revisión de la familia Plagiorchiidae Lühe, 1901 reconoce 17 especies válidas del género *Glypthelmins* Stafford, 1905; *G. quieta* (Stafford, 1900) Stafford, 1905; *G. africana* Dollfus, 1950; *G. californiensis* (Cort, 1919) Miller, 1930; *G. diana* Belouss, 1958; *G. elegans* Travassos, 1924; *G. palmipedis* (Lutz, 1928) Travassos, 1930; *G. parva* Travassos, 1924; *G. proximus* Freitas, 1941; *G. repandum* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924; *G. rugocaudata* (Yoshida, 1916) Yohata, 1934; *G. sera* Cordero, 1944; *G. shastai* Ingles, 1936; *G. simulans* Freitas, 1941; *G. staffordi* Tubangui, 1928; *G. subtropica* Harwood, 1932; últimamente DOBBIN (3) reporta una nueva especie: *Glypthelmins vitellurophilum* en *Hyla raniceps* (Cope).

Al realizar la comparación de nuestros ejemplares con las descripciones y figuras de esas especies encontramos que el elemento de mayor valor diferencial específico sería la extensión de las glándulas vitelinas, que en nuestra revisión bibliográfica así como en el material observado parece ser constante en cada especie. La especie que más se parece a *G. facioi* es *G. californiensis,* que difiere fundamentalmente de nuestra especie en que sus glándulas vitelinas se extienden desde el nivel de la ventosa oral, hasta el borde anterior o ecuatorial de los testículos. En *G. facioi* las vitelinas se originan desde el nivel de la bifurcación esofágica, hasta sobrepasar ligeramente el borde inferior de los testículos. Además, la extensión de las mismas glándulas en otras especies es bastante definida pudiendo iniciarse a diferentes niveles: ventosa oral, faringe, arco bifurcal, bolsa del cirro, borde anterior testicular y ovario, para sobrepasar el nivel de los testículos y finalmente siempre cerca de la extremidad posterior, pero a diferente altura. Con respecto a *G. quieta,* la distinción se fundamenta en la presencia de glándulas faríngeas.

Familia.—CEPHALOGONIMIDAE Nicoll, 1915

Subfamilia.—*Cephalogoniminae* Leoss, 1899

Cephalogonimus americanus Stafford, 1902

Tremátodos lanceolados que miden 2,489 a 2,694 mm de largo por 0,231

a 0,916 mm de ancho. La cutícula está cubierta de espinas, más evidentes y numerosas en la extremidad anterior, extendiéndose hasta el testículo posterior. La ventosa oral es subterminal, mide 0,231 a 0,238 mm de largo por 0,238 a 0,259 mm de ancho. El acetábulo es más pequeño que la ventosa oral, se encuentra en el tercio anterior del cuerpo, entre la bolsa del cirro y el ovario, a una distancia de 0,697 a 0,738 mm de la extremidad anterior y mide 0,184 a 0,190 mm de largo por 0,184 a 0,190 mm de ancho. La relación aproximada entre el acetábulo y la ventosa oral es de 2:1,7.

La faringe es ligeramente más ancha que larga y mide 0,163 a 0,181 mm del argo por 0,072 a 0,084 mm de ancho. El esófago mide 0,090 a 0,163 mm de largo por 0,048 a 0,054 mm de ancho.

Los ciegos intestinales se originan a una distancia de 0.410 a 0,478 mm de la extremidad anterior y se extienden sobrepasando el testículo posterior, finalizando en el tercio posterior; el ciego derecho mide 1,477 a 1,507 mm de largo por 0,045 a 0,046 mm de ancho y el izquierdo 1,425 a 1,573 mm de largo por 0,054 mm de ancho. La distancia del ciego derecho al extremo posterior del parásito es de 0,615 a 0,880 mm y la del izquierdo 0,560 a 0,807 mm.

Los testículos son masiformes, situados por detrás del acetábulo en la línea media longitudinal, en posición ligeramente oblicua, uno detrás del otro; el testículo anterior mide 0,245 a 0,272 mm de largo por 0,272 a 0,282 mm de ancho y el posterior 0,259 a 0,279 mm de largo por 0,306 a 0,361 mm de ancho.

El ovario es casi esférico y anterior a los testículos, situado en el borde lateral izquierdo del acetábulo y mide 0,184 a 0,225 mm de largo por 0,170 a 0,177 mm de ancho. La bolsa del cirro sacciforme y muy conspicua, con el extremo posterior más ensanchado en el borde superior del acetábulo, cruza el ciego derecho para llegar a la altura de la ventosa oral; mide 0,506 a 0,613 mm de largo por 0,102 a 0,170 mm de ancho. Las glándulas vitelinas están constituídas por pocos folículos generalmente extracecales y cecales, se extienden desde un nivel posterior a la bifurcación esofágica, hasta el borde posterior del testículo inferior.

El útero constituído por numerosas asas que se originan desde la extremidad posterior en situación intra y extracecal para continuar en un metratermo que bordea lateralmente la bolsa del cirro y desemboca en el poro genital. Los huevecillos miden 0,042 a 0,048 mm de largo por 0,021 a 0,042 mm de ancho. El poro excretor se localiza en la extremidad posterior del parásito.

HOSPEDERO. *Rana pipiens* Schreber, 1782.

LOCALIZACIÓN. Intestino delgado.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA. Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica.

EJEMPLARES. En la colección Helmintológica del Laboratorio de Investigaciones Médico-Veterinarias del M. A. I. con el Nº 50-3 y en la del Laboratorio de Helmintología, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología con el Nº 200-23.

DISCUSIÓN. Con base en trabajo de CABALLERO (2) estos tremátodos fueron clasificados como *Cephalogonimus americanus* Stafford, 1902 y nos fundamentamos para eso en la desigualdad del tamaño de las dos ventosas, posición de los testículos y en otros datos mensurables.

RESUMEN

En la presente contribución referimos la presencia de dos especies de tremátodos conocidos en *Rana pipiens* (*Megalodiscus temperatus* y *Cephalogonimus americanus*) y describimos una nueva especie en el mismo hospedero: *Glypthelmins facioi*.

SUMMARY

In the present paper the presence of *Megalodiscus temperatus* and *Cephalogonimus americanus* is reported from *Rana pipiens* and a new species of trematod, *Glyphtelmins facioi*, is described from the same host.

BIBLIOGRAFIA

1. BRAVO-HOLLIS, MARGARITA
1941. Revisión de los géneros *Diplodiscus* Diesing, 1836 y *Megalodiscus* Chandler, 1923 (Trematoda. Paramphistomoidea). II. *An. Inst. Biol. Méx.* 12 (2): 643-658.

2. CABALLERO Y C., E. y SOKOLOFF, D.
1936. Quinta contribución al conocimiento de la parasitología de *Renamontezumae*. Clave de las especies del género *Cephalogonimus* y descripción de una nueva especie. *An. Inst. Biol. Méx.* 7 (1): 120-154.

3. DOBBIN, J. E.
1957. *Glypthelmins vitellinophilum* sp. n., parásito de *Hyla raniceps* (Cope). (Trematoda, Plagiorchidae). *Mem. Inst. Osw. Cruz.* 56 (1): 153-162.

4. SKRJABIN, K. I.
1949. *Trematody jivotnyj i cheloveka. Osnovy Trematodologii.* III. 623 pp. Isdatelstvo. Akademii. Nauk. S.S.S.R. Moskva.

5. SKRJABIN, K. I.
1958. *Trematody jivotnyj i cheloveka. Osnovy Trematodologii.* XIV. 934 pp. Isdatelstvo. Akademii. Nauk. S.S.S.R. Moskva.

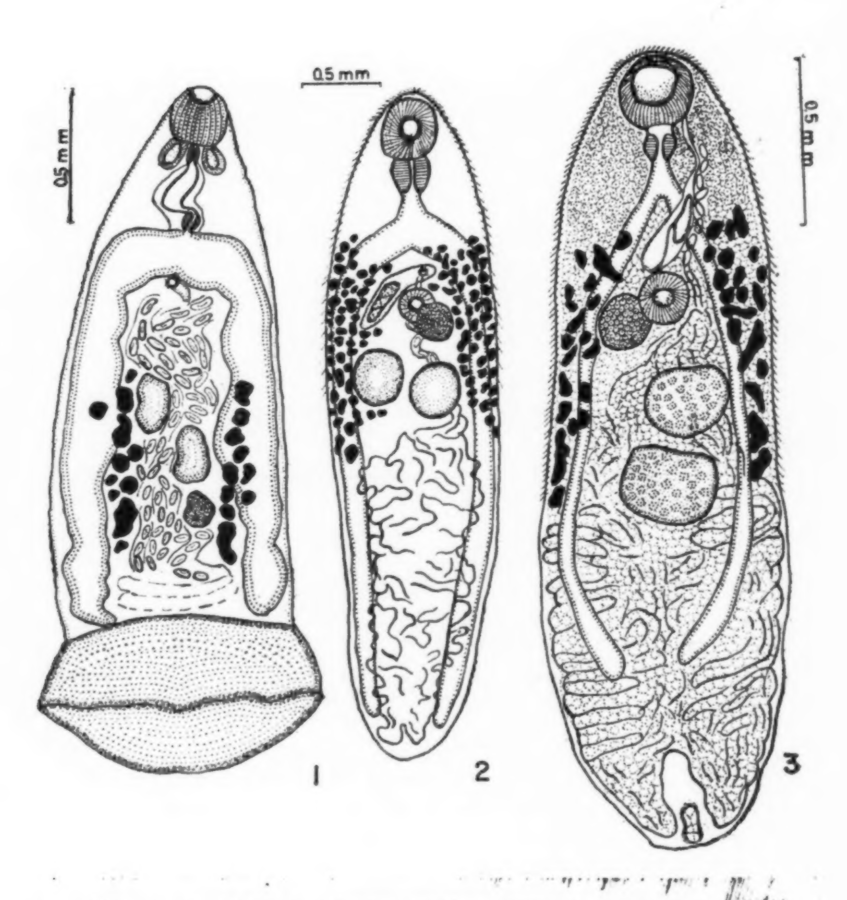


Fig. 1: *Megalodiscus temperatus* (Stafford, 1905) Harwood, 1932.

Fig. 2: *Glypthelmins facioi* n. sp.

Fig. 3: *Cephalogonimus americanus* Stafford, 1902.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 199-202, 1959

Epidermofitosis de los pies (pie de atleta) en estudiantes preuniversitarios

por

Otto Jiménez-Quirós*

(Recibido para su publicación el 28 de septiembre de 1959)

En los exámenes médicos efectuados en la Universidad de Costa Rica desde 1954 en estudiantes preuniversitarios, nos llamó poderosamente la atención la frecuencia con que se presentaban lesiones clínicamente semejantes a las provocadas por la epidermofitosis en la planta, regiones interdigitales y dedos de los pies. Se observaron además inflamaciones secundarias producidas por organismos piógenos tales como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, y otros.

Desde el año 1956 en adelante, se recogió la información necesaria para estudiar la etiología así como la epidemiología y la frecuencia de dichas manifestaciones. En este trabajo se ofrece la información recogida.

MATERIAL Y METODOS

Fueron examinados 2012 estudiantes provenientes de diversos centros de enseñanza secundaria, de los cuales 1116 eran hombres y 896 mujeres; la edad fluctuaba entre los 17 y los 20 años, predominando el grupo de 18 años. Como esta investigación se hacía como parte de la labor rutinaria de la ficha médica de los nuevos universitarios, el diagnóstico clínico se confirmó microscópicamente con preparaciones sin teñir; en los casos dudosos se hicieron cultivos para dermatofitos y cocos piógenos con muestras de la región afectada. Además, en ciertos casos se efectuaron intradermorreacciones con extractos diagnósticos comerciales, con lectura inmediata y a las 48 horas. Por no haberse hecho cultivos de todas las muestras, no mencionaremos en esta comunicación los agentes causales.

---

* Sección de Salud, Departamento de Bienestar y Orientación, Universidad de Costa Rica.

RESULTADOS

De los 2012 estudiantes examinados, 1438 presentaron epidermofitosis, o sea el 71,47 por ciento; de éstos, el 64,81 por ciento eran hombres y el 35,18 por ciento mujeres. Desglosados por sexo, de 1116 varones hubo 932 casos positivos (83,51%), de 896 mujeres, 506 casos positivos (56,47%). Hubo mayor incidencia de epidermofitosis en individuos provenientes de centros de enseñanza que cuentan con pila de natación para los estudiantes; también fue mayor el número de casos en los colegios públicos que en los privados, como se indica en el cuadro 1.

CUADRO 1

Incidencia de epidermofitosis de los pies en preuniversitarios costarricenses, según el tipo de institución y el sexo.

Tipo de colegio	VARONES		MUJERES	
	Con piscina	Sin piscina	Con piscina	Sin piscina
Público	92,08%	67,92%	65,55%	58,33%
Privado	75,87%	62,50%	52,00%	44,44%

En el cuadro 2 consignamos las cifras obtenidas clasificando las lesiones según el criterio de CONANT (2) y las formas clínicas dentro de cada uno de sus tipos.

DISCUSION

En nuestro país existen pocos datos sobre la incidencia de dermatofitosis de los pies, y en general, sobre otros tipos de dermatomicosis. Sin embargo, algunos autores nacionales se han ocupado parcialmente del problema, como PICADO (6) en 1915, ROTTER (7) en 1935, RUIZ (8) en 1953 y MATA Y MATA (5) en 1959. Muchos autores se han ocupado de los agentes causales de la dermatofitosis de los pies (cf. KAPLAN, 4); según MATA Y MATA los más frecuentes entre nosotros son *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* y *Epidermophyton floccosum*.

Sobre la modalidad de contagio, factor que nos interesa en particular, además del concepto clásico de transmisión directa por contacto, AJELLO y GETZ (1) dan mayor importancia a las escamas infectadas que permanecen en los zapatos y en el piso de las bañaderas, mientras que VANBREUSEGHEM (10) admite la infección aún a través de un mecanismo inhalatorio y de ingestión.

CUADRO 2

Clasificación de las epidermofitosis observadas en preuniversitarios costarricenses

Tipo de lesión	Variante clínica	Número	%	Totales	%
Todos los tipos		1438	100,00	1438	100,00
Crónico	Intertriginosa	530	36,84	801	57,70
	Pápulo-escamosa hiperqueratósica	271	18,86		
Sub-agudo	Vesiculosa aislada	304	21,14	402	27,94
	Vesículo-pustulosa	98	6,80		
Agudo	Eczematoidea	172	11,96	235	16,34
	Secundariamente infectada	63	4,38		

Creemos que todos estos factores deben tomarse en cuenta.

Clásico ha sido (2) considerar que la mujer posea mayor resistencia que el hombre hacia la infección; eso, sumado a la menor exposición al contagio, hace que la proporción de hombres contaminados en relación a las mujeres sea desde 5:1 hasta 3:1 (SAGHER, 9 p. 970).

De los datos aquí presentados parece desprenderse que un factor social (asistencia a colegios públicos o privados) y un factor epidemiológico (piscinas) son fundamentales en la morbilidad de "pie de atleta" en nuestro medio. Se hacen necesarios nuevos estudios sobre epidemiología de las dermatofitosis de los pies, en la misma esfera y en otras; lo mismo que estudios detallados para identificar los agentes causales, aunque clásicamente se cite como casi exclusivos a los dermatofitos ya mencionados.

RESUMEN

De 2012 estudiantes preuniversitarios, provenientes de diversos centros de enseñanza secundaria, 1438 (71,47%) presentaron manifestaciones varias de dermatofitosis en los pies. La enfermedad tuvo mayor incidencia en hombres que en mujeres, en colegios públicos que en privados, y en instituciones provistas de piscina que en las que carecen de ella. Fueron más frecuentes las formas de tipo crónico, siguiendo en importancia las sub-agudas y las agudas.

SUMMARY

A study is presented of the incidence of athlete's foot in 2012 intrant students of the University of Costa Rica, 1116 male and 896 female. The total number of cases found was 1438 (71.47%). The incidence among men was of 83.51 per cent, that among women of 56.47 per cent. As shown in table 1, incidence was greater in public than in private institutions, and in schools having a swimming pool than in those lacking one. Table 2 shows a classification of lesions, chronic types being most and acute types the least frequent.

BIBLIOGRAFIA

1. AJELLO, L. & GETZ, M. E.
1954. Recovery of dermatophytes from shoes and shower stalls. *J. Invest. Dermat.*, 22(1): 17-21.

2. ASOCIACIÓN AMERICANA DE SALUD PÚBLICA
1955. *El control de las enfermedades trasmisibles en el hombre.* 8ª ed. 243 pp. Publ. Cient. Nº 21. Oficina Sanitaria Panamericana, Washington, D. C.

3. CONANT, N. F. & col.
1954. *Manual of clinical mycology.* 2ª ed. xii + 456 pp. W. B. Saunders Co., Philadelphia.

4. KAPLAN, W. & col.
1958. Recent developments in animal ringworm and their public health implication. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 70(3): 636-649.

5. MATA, GRACE G. DE, & L. MATA
1959. Dermatofitosis humanas en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 7 (2): 157-189.

6. PICADO, C.
1915. Primera contribución al conocimiento de las micosis en Costa Rica. *An. Hospital de San José,* 1(1): 1-21.

7. ROTTER, W.
1935. Micosis en Costa Rica. *Mem. Segundo Congreso Méd. Centroamericano, San José, Costa Rica,* 196-203.

8. RUIZ, A.
1953. Un caso de *tinea unguium* producido por *Microsporum gypseum* (Bodin 1907). Guiart et Grigoriakis, 1928. *Rev. Biol. Trop.*, 1(1): 33-37.

9. SAGHER, F.
1959. Epidermofitosis. *En* SIMONS, *Dermatología tropical y micología médica,* vol. 2, 969-982.

10. VANBREUSEGHEM, R.
1957. Pathogenesis of tinea infections. *Arch. Belge Dermat. et Syph.*, 13(4): 484-493.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 203-206, 1959

Determinación del nitrógeno ureico y de la glucosa en 0,25 ml de sangre capilar

por

José Miguel Jiménez*

(Recibido para su publicación el 15 de octubre de 1959)

La dificultad de no disponer de suficiente cantidad de sangre para hacer las determinaciones cuantitativas de sus componentes, ha llevado a los investigadores a procurar el uso de microtécnicas (4, 5). No obstante, junto con las ventajas de poder trabajar con cantidades muy pequeñas de sangre, se presentan algunos inconvenientes en cuanto a la exactitud y la sensibilidad de los métodos.

La presente modificación, al macrométodo de la ureasa propuesto por Karr y Looney (citados por BRAY (1)) para la determinación cuantitativa de la urea sanguínea, es el resultado de estudios comparativos entre los diversos métodos más usados y recomendados en la actualidad (2, 3, 4, 5). Consideramos que la simplicidad de la técnica y la sensibilidad de la misma, hacen de éste un método sumamente práctico. Además posee la ventaja de aprovechar una cantidad muy pequeña de sangre (0,25 ml) para hacer sobre ella las determinaciones conjuntas del nitrógeno ureico y la glucosa. Los trabajos experimentales llevados a cabo con el micrométodo propuesto, han dado resultados altamente satisfactorios con una sensibilidad al miligramo, usando soluciones patrón de concentración conocida.

MICROTECNICA PARA EL NITROGENO UREICO SANGUINEO

1) Tómense dos tubos de ensayos de 13 x 100 mm y póngase en cada

* Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Letras, Universidad de Costa Rica.

uno de ellos 1 ml de agua destilada; añádanse, agitando bien, 0,25 ml de la solución ureasa-fosfato*.

2) Al primer tubo añádanse 0,25 ml de sangre capilar.

(Para la obtención de la muestra hágase una incisión profunda de la yema del dedo y recójase la sangre en un tubo de ensayos de 8 x 75 mm. Para evitar la coagulación agítese la sangre con un aplicador de madera, el cual ha sido previamente humedecido en una solución de oxalato de potasio al 20%).

3) Al segundo tubo añádanse 0,25 ml de agua destilada.

Todas las operaciones siguientes deben efectuarse simultáneamente en ambos tubos, el primero de los cuales representa la incógnita y el segundo la concentración cero.

4) Mézclese bien e incúbese durante 15 minutos a 50° C en baño de agua.

5) Añádanse 2.5 ml de agua destilada; 0,5 ml de ácido sulfúrico 2/3 N y 0,5 ml de tungstato de sodio al 10 por ciento.

6) Mézclese bien y centrifúguese durante 5 minutos a 3.000 r. p. m.

7) Con una pipeta póngase 1,0 ml del centrifugado claro y libre de proteínas de cada tubo, respectivamente, en dos tubos de ensayos.

8) Añádanse 8,0 ml de agua destilada y 1,0 ml de reactivo de Nessler.

9) Mézclese. Déjese en reposo por un minuto. Léase en el fotocolorímetro, usando el filtro azul de 420 mμ, el porcentaje de transmisión de la incógnita en comparación con la solución "blanco" ajustando a 100 por ciento de transmisión. Búsquese en la tabla de calibración el valor correspondiente a la lectura.

MICROTECNICA PARA LA GLUCOSA SANGUINEA

I. *Para hacer las determinaciones cuantitativas del nitrógeno ureico y la glucosa simultáneamente, procédase de la manera siguiente:*

1) Tómense dos tubos de Folin graduados a 12,5 ml y a 25,0 ml Con una pipeta ponga en el primero 2,0 ml del centrifugado claro y libre de protenínas obtenido para hacer la determinación del nitrógeno ureico. En el segundo tubo ponga 2,0 ml del centrifugado claro del "blanco". En ambos tubos deben efectuarse todas las operaciones siguientes:

2) Añádase 2,0 ml de reactivo de tartrato alcalino de cobre.

3) Agítense e introdúzcanse los tubos en un baño de agua hirviente por 10 minutos.

---

* a) Fosfato disódico 0.05 molar. b) Ureasa en polvo (Harlington Chemical Company, o E. R. Squibb & Sons Inc.). Inmediatamente antes de que se vaya a hacer la determinación, póngase en un tubo de ensayos 10 ml de la solución de fosfato disódico (a) y añádanse 0.1 gm de la ureasa en polvo. Mézclese bien agitando vigorosamente. Esta solución de ureasa-fosfato no debe ser usada después de transcurridas más de 6 horas de su preparación.

4) Enfríese. Adiciónese 2,0 ml de reactivo de ácido fosfomolíbdico.

5) Dilúyase con agua destilada, el tubo que contiene la incógnita a 12,5 ml y a 25 ml el tubo de concentración cero (el "blanco" se diluye al doble para evitar que éste tenga una densidad óptica muy elevada).

6) Agítense y déjense en reposo por 10 minutos.

7) Léase en el fotoclorímetro usando el filtro de 420 mμ en la forma indicada.

II. *Para hacer la determinación de la glucosa solamente, procédase de la manera siguiente:*

1) Hágase un *filtrado* o centrifugado libre de proteínas de la sangre en estudio así:

a) Tómense dos tubos de ensayos y póngase en cada uno de ellos 3,75 ml de agua destilada; adicione al primero 0,25 ml de sangre capilar; al segundo 0,25 ml de agua destilada. El primero de los tubos representa la incógnita y el segundo el blanco.

2) Tómense dos tubos de Folin graduados a 12,5 y 25 ml Con pipeta póngase en el primero 2,0 ml del centrifugado claro y libre de proteínas y márqueselo como incógnita. En el segundo póngase 2,0 ml del blanco.

3) Continúese siguiendo las instrucciones dadas anteriormente para la determinación conjunta de la glucosa y el nitrógeno ureico.

RESUMEN

Se ha querido proponer una modificación al método clásico de la ureasa para la determinación cuantitativa del nitrógeno ureico y de la glucosa usando sangre capilar. Dicha modificación consiste además de la indicación del uso de 0.25 ml de sangre, en el uso de una solución de ureasa-fosfato como fuente de la enzima que actuará liberando el nitrógeno de la urea sanguínea.

En el transcurso de las determinaciones experimentales, se pudo demostrar que con la adición de una cantidad precisa y constante de la solución de ureasa-fosfato, se eliminaba el error atribuído a otras técnicas. Asimismo, se propone una microtécnica para la determinación de nitrógeno y de la glucosa simultáneamente.

SUMMARY

A modification to the classical urease method is proposed. Dosage of blood ureic nitrogen and glucose can be made with 0.25 ml of capillary blood. The use of phosphate-urease solution is suggested as a source of the enzyme.

This technique standardizes the amount of enzyme, therefore avoiding error. The 420 mμ, blue filter is used for both photocolorometric determinations.

BIBLIOGRAFIA

1. BRAY, W. E.
   1941. *Sinopsis de los métodos bioquímicos de laboratorio.* 456 pp. Editorial UTEHA.

2. GRADWHOL, R. B. H.
   1948. *Clinical laboratory methods and diagnosis.* 4ª ed., Volumen I, viii + 1295 pp., *The C. V. Mosby Co.,* St. Louis, Mo.

3. KOLMER, W. Q. & F. BOERNER
   1948. *Methods of clinical laboratory.* 4ª ed., xxxiii + 1083 pp. Editorial Interamericana S. A., México, D. F.

4. OPAL, E. H.
   1957. *Manual of clinical laboratory methods.* 4ª ed., ix + 361 pp. Charles C. Thomas, Springfield, Ill.

5. PHOTOVOLT CORPORATION
   1957. Clinical Photoelectrical Colorimeter. Reference book for clinical tests. N. Y. 146 pp.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 207-210, 1959

Frecuencia de Salmonella y Shigella en moscas domésticas colectadas en la ciudad de San José

por

Róger Bolaños*

(Recibido para su publicación el 1º de diciembre de 1959)

La importancia de la mosca en la diseminación de organismos entéricos patógenos ha sido señalada desde fines del siglo pasado; pero lo difícil de su combate ha hecho imposible eliminar su participación en la epidemiología de los trastornos gastro-intestinales, no solamente en aquellos casos producidos por miembros de la familia Enterobacteriaceae, sino también en los causados por otros agentes.

El papel desempeñado por el díptero no es el de un simple transmisor mecánico, de carácter pasivo; por el contrario, las salmonelas se reproducen en su aparato digestivo alcanzando después de algunos días una población elevada (1), hecho que aumenta considerablemente su importancia epidemiológica.

Por lo apuntado anteriormente hemos creído interesante determinar la frecuencia de *Salmonella* y *Shigella* en algunas de nuestras moscas domésticas, con el objeto de poseer una idea de la posible importancia que tienen entre nosotros en la transmisión de infecciones intestinales.

MATERIAL Y METODOS

Como fuente de material escogimos tres lugares de la ciudad de San José: algunas casas de habitación en los alrededores del Matadero Municipal, las instalaciones para el mantenimiento de animales en la Universidad de Costa Rica y el Mercado Central de Abastos.

Las capturas realizadas en el Matadero Municipal se hicieron a través de un año (de agosto de 1958 a setiembre de 1959) con el fin de poder observar si existe o no en la mosca una mayor incidencia de enterobacterias patógenas en alguna época del año. En los otros dos casos, el Mercado Central y las insta-

* Departamento de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

laciones universitarias para animales, las capturas sólo se realizaron durante tres meses.

Las moscas fueron colectadas en trampas que funcionan por medio de un mecanismo de relojería y que se cebaron con miel de abeja. Una vez terminada la labor de recolección, las trampas fueron colocadas a -15° C por 30 minutos, al cabo de los cuales los insectos fueron retirados y divididos en dos lotes, uno destinado a la investigación bacteriológica y el otro a la identificación entomológica.

El grupo destinado a la búsqueda de entéricos se dividió en lotes de 20 ejemplares cada uno, que se trituraron en morteros estériles, diluyéndose luego el material en una pequeña cantidad de solución salina fisiológica estéril. El macerado se sembró en Agar Verde Brillante de Kristiense, Agar *Shigella-Salmonella*, medio de Tetrationato adicionado de verde brillante y caldo Selenito-F; el crecimiento en estos dos últimos medios, después de 24 horas de incubación a 37° C, fue transferido a placas de Agar Verde Brillante en el caso del Tetrationato y de Agar *Shigella-Salmonella* en el del Selenito-F.

Todas las cepas aisladas que mostraron características semejantes a las de *Salmonella* o *Shigella* fueron identificadas tanto bioquímica como serológicamente.

RESULTADOS

De 3.121 moscas identificadas entomológicamente, representando todos los lotes, el 97,9 por ciento era *Musca domestica* L.; el resto pertenecía a otras especies que no fueron identificadas.

La procedencia de las muestras con los resultados obtenidos en los aislamientos se anotan en el cuadro 1.

CUADRO 1

Aislamiento de Salmonella *y* Shigella *en 100 lotes de 20 moscas cada uno capturadas en tres diferentes lugares de la ciudad de San José.*

Procedencia	Lotes examinados	LOTES POSITIVOS				Número de cepas aisladas
		Salmonella		*Shigella*		
		Total	%	Total	%	
TOTAL	100	24	24,0	1	1,0	29
Alrededores del Matadero	66	22	33,3	0	0,0	26
Universidad	7	2	28,6	0	0,0	2
Mercado	27	0	0,0	1	3,7	1

El análisis de los resultados obtenidos con los insectos del Matadero Municipal, con relación a la época del año en que fueron hechas las capturas, no mostró ninguna variación estacional significativa en lo referente a frecuencia de salmonelas en general, ni tampoco en lo referente a algún serotipo en particular.

El más alto porcentaje de positividad encontrado lo presentaron las moscas capturadas en este mismo lugar, donde logramos aislar 26 diferentes serotipos de salmonelas en un total de 66 lotes examinados (33,3%). Fueron aislados los siguientes serotipos: *S. anatum* 5 veces, *S. newport* 4 veces, *S. panama* 3 veces, *S. give* 3 veces, *S. saint-paul* 3 veces, *S. san-diego* 2 veces, *S. reading* 1 vez y *S. zanzibar* 1 vez: cuatro serotipos no fueron identificados por encontrarse en fase rugosa.

Las dos cepas del género *Salmonella* encontradas en moscas procedentes de las instalaciones para animales de la Universidad de Costa Rica fueron identificadas como *S. typhi-murium*, hallazgo que era de esperarse en vista de la cría de ratones que ahí se mantiene.

En ninguno de los dos anteriores lugares pudimos aislar organismos del género *Shigella*, cosa que también era supuesta debido a que la fuente de contaminación es de origen animal.

El único miembro de la familia Enterobacteriaceae que logramos cultivar de las moscas colectadas en el Mercado Central de Abastos fue *Shigella boydii*, microorganismo que indiscutiblemente tiene que provenir de material humano.

DISCUSION

La situación observada en el cuadro 1 se adapta plenamente a la realidad de las condiciones sanitarias de los lugares donde se hicieron las capturas. Los altos porcentajes de salmonelas encontrados en moscas capturadas en los alrededores del Matadero Municipal y en las instalaciones para animales de la Universidad de Costa Rica son posiblemente debidos a la presencia de excretas en el suelo de los edificios y en el agua de lavado que sin tratamiento alguno se estanca en los canales de desagüe. Esta suposición viene a ser complementada con los datos de alta incidencia de salmonelas en cerdos (3) y en bovinos (2).

El caso de que ninguna salmonela fuera aislada en el Mercado Central de Abastos se explica por la razón de que los alimentos ahí expendidos, en general no son aptos para albergar entéricos patógenos no existiendo, por lo tanto, fuentes adecuadas de contaminación.

Con referencia a *Shigella*, la restricción del género al hombre y algunos monos explica el por qué de su ausencia en las moscas de los lugares donde la fuente de contaminación probable son otros animales. La cepa aislada de moscas colectadas en el Mercado Central es, indiscutiblemente, de origen humano y pensamos que puede provenir de los servicios sanitarios de ese establecimiento que son bastante inadecuados. A pesar de que la incidencia en este lugar es relativamente baja (3,7%), no por eso deja de ser importante, máxime si toma-

mos en cuenta que la menor resistencia de *Shigella* a las condiciones ambientales puede haber influído decisivamente en el éxito de los aislamientos.

La incidencia de entéricos patógenos en las moscas capturadas es, a nuestro modo de ver, muy elevada, y queremos llamar la atención de las autoridades sanitarias sobre la posible participación de los dípteros en la trasmisión de algunos de los agentes responsables de cierto tipo de trastornos gastro-intestinales que representan en Costa Rica la principal causa de mortalidad infantil (4).

AGRADECIMIENTO

El autor desea consignar su agradecimiento a la Lic. Nuria Vives de Bolaños por su colaboración al clasificar las especies de moscas y al Lic. Enrique de La Cruz por la identificación serológica de las salmonelas aisladas.

RESUMEN

Del análisis de 100 lotes de 20 moscas cada uno, procedentes de las casas de habitación en los alrededores del Matadero Municipal, de las instalaciones para animales en la Universidad de Costa Rica y del Mercado Central de Abastos, capturadas en diversas épocas del año, se logró determinar un índice de contaminación para *Salmonella* y *Shigella* de 24,0 y 1,0 por ciento, respectivamente. No se logró demostrar, en aquellos casos en que las capturas fueron hechas sistemáticamente durante todo un año, la existencia de alguna influencia estacional en cuanto a la frecuencia de salmonelas o bien de algún serotipo en particular.

SUMMARY

One hundred lots of 20 house flies each were collected in the Municipal Slaughterhouse and the City Market of San Jose, Costa Rica, and in the animal room of the School of Microbiology, University of Costa Rica. Collections were made at different times through the year. Cultures showed an incidence of 24.0 per cent for *Salmonella* and 1.0 per cent for *Shigella*. No seasonal variation was detected either for frequency of organisms or for any particular serotype.

BIBLIOGRAFIA

1. Alcivar, C. y F. Campos
1946. Las moscas, como agentes vectores de enfermedades entéricas en Guayaquil. *Rev. Ecuatoriana de Hig. Med. Trop.* 1 (3): 3-14.

2. Arroyo, G. y R. Bolaños
1959. Portadores bovinos de *Salmonella*. En preparación.

3. De La Cruz, E.
1958. Epidemiología de la Salmonelosis en Costa Rica. I. Salmonelosis en porcinos. *Rev. Biol. Trop.* 6 (1): 27-35.

4. Esquivel, R.
1958. *El problema de las diarreas intestinales en Costa Rica. Contribución al estudio de su etiología.* Tesis de Grado, Universidad de Costa Rica.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 211-215, 1959

Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de Schizotrypanum cruzi*

por

Rodrigo Zeledón**

(Recibido para su publicación el 15 de diciembre de 1959)

La prodigiosina es un pigmento rojo, insoluble en agua, con propiedades antibióticas contra una serie de microorganismos, obtenido del bacilo prodigioso, *Serratia marcescens*. Químicamente está bien identificado como un derivado del tripirrilmetano y la literatura histórica sobre el compuesto ha sido revisada por LACK (5). Este mismo autor lo encontró fungistático y fungicida contra *Coccidioides immitis* en altas diluciones *in vitro*. Con anterioridad había sido encontrado de acción efectiva contra varias bacterias y FISCHL (4) obtuvo curas parasitológicas después de inyectar prodigiosina en ratones infectados con *Trypanosoma brucei*. BALAMUTH y BRENT (1) encontraron una acción directa inhibitoria contra las formas de cultivo de *Entamoeba histolytica*. Asimismo, FELSENFELD *et al.* (3) observaron que pequeñas cantidades del antibiótico inhibe, *in vitro, E. histolytica, T. conorhini, Leishmania tropica, L. donovani* y *Schizotrypanum cruzi*. De otra parte, la prodigiosina administrada a animales de laboratorio puede prevenir infecciones experimentales por *E. histolytica, T. brucei* y *T. equiperdum*. Más recientemente, MCRARY *et al.* (7) encontraron que concentraciones tales como 10 μg de prodigiosina por mililitro pueden inhibir totalmente el movimiento de la forma de cultivo de *S. cruzi* en pocos minutos, y la acción parece ser tripanocida. No conocemos ningún estudio metabólico tendiente a una determinación de la acción de la sustancia sobre parásitos.

MATERIAL Y METODOS

La cepa de *S. cruzi* empleada es de origen costarricense y los detalles de aislamiento y método de cultivo han sido previamente descritos (10). La pro-

* Este trabajo fue realizado en los laboratorios de fisiología de parásitos de la Facultad de Higiene de la Universidad de Johns Hopkins. El autor agradece al Dr. Clark P. Read las facilidades prestadas.

** Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.

digiosina, una muestra de los Laboratorios Commercial Solvents Corporation de 93,1 por ciento de pureza, nos fue obsequiada por el Dr. Willard L. McRary, de grata memoria. Los cálculos de las concentraciones fueron basados en la sustancia pura y como solvente se usó el propilenoglicol. Los estudios respiratorios fueron hechos de acuerdo con las técnicas manométricas corrientes de UMBREIT *et al.* (9) siguiendo los procedimientos ya anotados en publicación aparte (10). Las determinaciones de nitrógeno fueron hechas de acuerdo con la técnica descrita por LANG (6).

RESULTADOS

Concentraciones muy bajas de prodigiosina se mostraron fuertemente inhibitorias de la respiración y del movimiento de *S. cruzi*. El efecto fue bastante más marcado en presencia de glutamina que cuando se usó glucosa como substrato. Asimismo, el propilenoglicol presentó un cierto grado de toxicidad para los flagelados. Los resultados se resumen en los cuadros 1 y 2. En las figuras 1 y 2 se aprecian gráficamente los grados de inhibición debidos a cada una de las concentraciones del antibiótico. En relación a la respiración endógena, la misma fue reducida en un 44,7 por ciento por el propilenoglicol solo, y en un 90,6 por ciento en presencia de una concentración de 17 μg de prodigiosina por ml (0,5 x 10^{-4}M.). Asimismo, la motilidad fue reducida en aproximadamente un 75 por ciento en el primer caso, en relación al control endógeno, y no se observaron organismos móviles en el segundo caso.

CUADRO 1

Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de S. cruzi *en presencia de glucosa en una concentración final de 0,01 M. y a 31° C. A cada frasco se adicionó, además de glucosa, 0,3 ml de propilenoglicol o 0,3 ml de cada dilución de prodigiosina en propilenoglicol. En la división central de cada frasco se colocaron 0,2 ml de KOH al 20% para completar un volumen final de 3,2 ml. Cada cifra representa la media de una determinación en duplicado.*

	Control + propilenoglicol (1)	(1) + 0.5 x 10^{-4}M. (17 μg/ml)	(1) + 0.5 x 10^{-5}M. (1,7 μg/ml)	(1) + 10^{-6}M. (0,34 μg/ml)
Porcentaje de inhibición en relación al control*	38,2	76,7	66,7	38,8
Motilidad**	++	0	±	++

* Con glucosa sólamente.
** 0 = ausencia de movimiento; ± = muy pocos organismos con movimiento; + a +++ = grados intermedios de movimiento; ++++ = motilidad del control.

CUADRO 2

Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de S. cruzi *en presencia de glutamina. Leyenda y símbolos como en el Cuadro 1.*

	Control + propilenoglicol (1)	(1) + 0.5 x 10^{-4}M. (17 µg/ml)	(1) + 0.5 x 10^{-5}M. (1,7 µg/ml)	(1) + 10^{-6}M. (0,34 µg/ml)
Porcentaje de inhibición en relación al control*	34,4	97,0	94,7	84,9
Motilidad	++	0	0	0

* Con glutamina solamente.

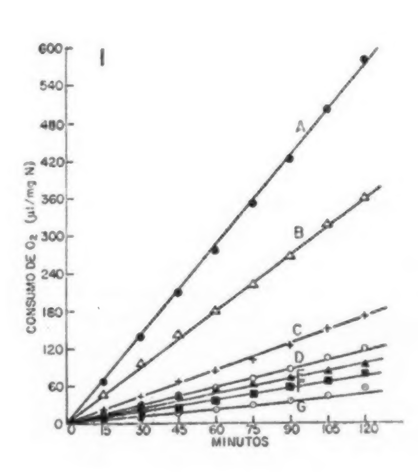
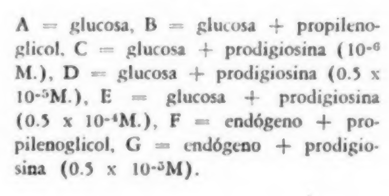


FIG. 1


A = glucosa, B = glucosa + propilenoglicol, C = glucosa + prodigiosina (10^{-6} M.), D = glucosa + prodigiosina (0.5 x 10^{-5}M.), E = glucosa + prodigiosina (0.5 x 10^{-4}M.), F = endógeno + propilenoglicol, G = endógeno + prodigiosina (0.5 x 10^{-5}M).

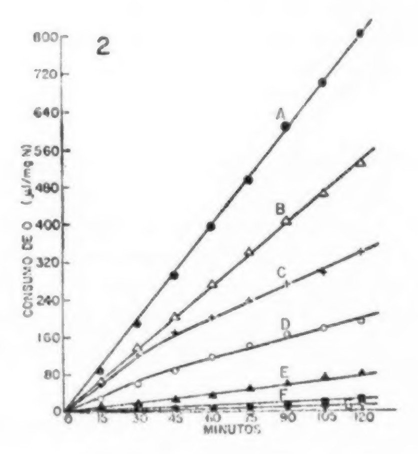


FIG. 2

A = glutamina, B = glutamina + propilenoglicol, C = endógeno, D = endógeno + propilenoglicol, E = glutamina + prodigiosina (10^{-6}M.), F = glutamina + prodigiosina (0.5 x 10^{-5}M.), G = glutamina + prodigiosina (0.5 x 10^{-4}M.).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La prodigiosina se muestra como un antibiótico activo contra varios microorganismos y los resultados aquí expuestos, para el caso de *S. cruzi*, muestran que altas diluciones de la sustancia son efectivas como bloqueadoras del metabolismo de los parásitos. El hecho de que inhibe la respiración y el movimiento en presencia de dos sustancias que se metabolizan por caminos diferentes, la convierte en una droga de promesa terapéutica para ciertos casos, como el presente, en que el metabolismo de glucosa no es fundamental desde el punto de vista energético (2). La utilización de glutamina como fuente de energía, produciendo estímulos respiratorios iguales o mejores a los producidos por glucosa en la forma de cultivo de esta especie, ha sido demostrada por ZELEDÓN (11). Desafortunadamente la prodigiosina parece ser bastante tóxica *in vivo* (3) por lo que su uso en terapéutica requeriría primero los trabajos de un químico orgánico. No estamos olvidando en estas consideraciones que el metabolismo de las formas de cultivo de algunos tripanosómidos puede presentar diferencias fundamentales en relación a su correspondiente forma sanguínea. Sin embargo, tal y como lo ha anotado RYLEY (8), en el caso de *S. cruzi* estas diferencias parecen ser menos importantes. El efecto del propilenoglicol podría explicarse, al menos en parte, por las propiedades que este líquido posee de activador de superficie.

RESUMEN

Se prueba el efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de *S. cruzi*. La dilución intermedia usada, correspondiente a una concentración final del antibiótico de 0.5 x 10^{-5}M. (1,7 μg/ml), inhibió cerca del 67 por ciento de la respiración en presencia de glucosa y aproximadamente el 95 por ciento en presencia de glutamina. La motilidad de los flagelados es prácticamente nula en ambos casos después de 2 horas de exposición a 31° C. Se considera al antibiótico una droga de promesa terapéutica en la enfermedad de Chagas.

SUMMARY

The effect of prodigiosin on the respiration of the culture form of *S. cruzi* at 31° C was studied by manometric techniques. The middle concentration of the antibiotic used (0.5 x 10^{-5} M. or 1.7 μg/ml) inhibited respiration about 67 per cent in the presence of glucose and 95 per cent in the presence of glutamine, as compared with the controls with the substrates alone. At the end of the experiment (2 hours) all the organisms were practically motionless in both cases. Prodigiosin also inhibited a fraction of the endogenous respiration of the flagellates. Some considerations are made, in relation to the possible therapeutic use of the drug.

BIBLIOGRAFIA

1. BALAMUTH, W. & M. M. BRENT
1950. Biological studies on *Entamoeba histolytica* IV. Direct action of the antibiotic Prodigiosin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* 75: 374-378.

2. BRAND, T. VON, E. J., TOBIE, R. E., KISSLING & G. ADAMS
1949. Physiological and pathological observations on four strains of *Trypanosoma cruzi. J. Infect. Dis.,* 85: 5-16.

3. FELSENFELD, G., G. W., MAST & S. J. ISHIHARA
1950. Action of Prodigiosin on Protozoa. *J. Parasitol.,* 36 (Suplem.): 25.

4. FISCHL, V.
1935. Chemotherapeutische Prüfung einiger Pyrrolfarbstoffe. *Z. Immunitätsforsch.,* 85: 77-80.

5. LACK A.
1949. Prodigiosin. I. Antibiotic action on *Coccidioides immitis in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,* 72: 656-658.

6. LANG, C. A.
1958. Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.,* 30: 1692-1694.

7. MCRARY, W. L., E. L. BEAVER & E. R. NOBLE
1953. *In vitro* effects of Prodigiosin and other antibiotics on *Trypanosoma cruzi. Exp. Parasitol.,* 2: 125-128.

8. RYLEY, J. F.
1956. Studies on the metabolism of the Protozoa. 7. Comparative carbohydrate metabolism of eleven species of trypanosome. *Biochem.* J., 62: 215-222.

9. UMBREIT, W. W.; R. H. BURRIS & J. F. STAUFFER
1957. *Manometric techniques.* 338 pp. Burgess Publ. Co. Minn.

10. ZELEDÓN, R.
1960. Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. I. Endogenous respiration and respiration in the presence of glucose. *J. Protozool.* (en prensa).

11. ZELEDÓN, R.
1960. Comparative physiological studies on four species of hemoflagellates in culture. II Effect of carbohydrates and related substances and some amino compounds on respiration. *J. Parasitol.* (en prensa).

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 217, 1959

Notes on Costa Rican Opalinids.

I. Opalina moreletei Metcalf.

by

Armando Ruiz*

(Received for publication December 15, 1959)

The purpose of this paper is to report the presence of a species of *Opalina* in Costa Rica, previously described from *Agalychnis moreletei* of Guatemala.

Three other species of *Opalina* are known in Costa Rica, all described from autochthonous frogs. *O. helenae* Metcalf, from *Agalychnis helenae* Cope captured at San Carlos, *O. copei* Metcalf, from *Rana copei* Boulanger, from Pico Blanco and *O. obtrigonoidea austricola* Metcalf, found in *Rana pipiens* collected at the same place.

Opalina moreletei is now recorded from a specimen of *Agalychnis moreletei* (Duméril) collected at Desamparados. No differences were found with Metcalf's short description, (*U. S. Nat. Mus. Bull.* 120, 1923) except in the smaller dimensions of our opalinae. The largest individual we found measured 242.0 μ in length and 151.5 μ in width. The smaller dimensions in our specimens may be due to the opalinae being in a period of rapid successive divisions, becoming progressively smaller, previous to encysting. Metcalf does not mention cysts of this species; he probably has not observed this stage in his material. We have found uninucleated, rounded cysts, measuring from 11 μ to 25 μ in diameter.

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 219, 1959

Notes on Costa Rican Opalinids.
II. Zelleriella antillensis (Metcalf) and Z. bufoxena Metcalf.

by

Armando Ruiz* and Mario Alfaro*

(Received for publication December 15, 1959)

Four species of zelleriellae are known in Costa Rica, all described from local anurans. *Zelleriella opisthocarya* Metcalf, 1923, from *Bufo coniferus* Cope (collection place not indicated), *Z. atelopyxena* Metcalf, 1923, from *Atelopus varius* Stannius, collected at Pico Blanco, *Z. dendrobatidis* Metcalf, 1923, from *Dendrobates tinctorius* (Schneider), (collection place not indicated) and *Zelleriella* sp., a second species found by Metcalf in *Atelopus varius* but not named by this author. Unfortunately we have not had the opportunity of examining specimens of this frog so that we might encounter again the latter species of *Zelleriella* and proceed to redescribe it. With this note we increase the number of known species with the following: *Z. antillensis* (Metcalf, 1914) Metcalf, 1923 and *Z. bufoxena* Metcalf, 1923.

Z. antillensis was originally described by Metcalf from specimens of *Bufo marinus* from Jamaica. *B. marinus* is the most widely distributed toad in our country. We have examined 33 animals of this species of which 22 harbor zelleriellae. No differences were found with Metcalf's description (*U. S. Nat. Mus. Bull.*, 120, 1923). The largest form we found measured 194 μ in length and 121 μ in width. In our preparations there are present a great variety of sizes from the largest trophozoits to the smallest pre-cystic forms. The cysts appear as uninucleated, irregular or rounded bodies. These elements measured 21 - 30 μ in diameter. *Zelleriella artagasi* Unti (*Rev. Biol. Hyg.*, 6: 39, 1935) is another species described from *Bufo marinus*. At present we have not been able to find it in our material.

Zelleriella bufoxena was found in a specimen of *Bufo haematiticus* collected at Turrialba. The scanty forms encountered corresponded well to Metcalf's description (*U. S. Nat. Mus. Bull.*, 120, 1923). No cysts were observed. This species was described by Metcalf from specimens of *Bufo haematiticus* collected at Nicaragua.

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 221-224, 1959

Eimerias de los bovinos de Costa Rica

I. Incidencia en animales adultos y sanos

por

Armando Ruiz*

(Recibido para su publicación el 17 de diciembre de 1959)

Siendo hoy día en Costa Rica la industria ganadera una de las principales fuentes de riqueza, y no existiendo referencia alguna en nuestra literatura parasitológica sobre un importante grupo de parásitos como lo son los coccidios, emprendimos la tarea de examinar la materia fecal de vacunos con el objeto de llegar a determinar las especies de eimerias existentes entre nosotros.

Para empezar la labor hemos escogido cien reses adultas y aparentemente sanas, que se sacrifican en el matadero municipal de San José. Los resultados obtenidos en esta encuesta los damos a conocer en la presente nota.

MATERIAL Y METODOS

Para el presente estudio nos sirvieron las reses que se destazan en el Matadero Municipal de San José** para consumo de la población capitalina. Se examinó la materia fecal de cien animales. Las muestras se obtuvieron del recto de las reses recién sacrificadas y en frascos de vidrio se transportaron al laboratorio.

Todas las muestras de heces se trataron según la técnica empleada por LEE (2) con el objeto de purificar y concentrar los ooquistes. Las observaciones de las preparaciones microscópicas se hicieron con objetivos de bajo poder, empleándose el objetivo de inmersión en los casos positivos para estudiar el detalle de los ooquistes y tomar las mediciones con ayuda de un micrómetro ocular.

La identificación específica de los ooquistes hallados la hicimos siguiendo el sistema usado por CHRISTENSEN (1) y por LEE y ARMOUR (3).

---

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

** Agradecemos al Sr. Rodrigo Montoya, jefe del Rastro, la colaboración prestada.

RESULTADOS

El examen de heces de las cien reses estudiadas dio el resultado que se consigna en el cuadro 1.

CUADRO 1

Incidencia de eimerias en las reses examinadas

Coccidios	% de positivos en cien animales examinados
Total de infecciones	12
Eimeria bovis	7
Eimeria ellipsoidalis	3
Eimeria zürni	1
Eimeria cylindrica	1

Los ooquistes de *E. bovis* se reconocieron por su forma ovoide típica, por el color amarillento de la membrana ooquística, además en el polo anterior de muchos elementos se pudo observar la existencia de un micropilo. Los ooquistes de esta especie midieron 27,0 a 30,0 μ de largo por 18,0 a 21,0 μ en la porción más ancha.

Los ooquistes de *E. ellipsoidalis* se reconocieron fácilmente por su forma elipsoidal, la ausencia de micropilo, por presentar una membrana delgada, homogénea, ligeramente amarillenta cuando se observa con el objetivo de inmersión. Las dimensiones obtenidas fueron de 16,0 a 20,0 μ de largo por 12,0 a 13,6 μ en su porción más ancha.

Los ooquistes considerados como *E. zürni* presentaron las siguientes características: ooquistes esféricos, sub-esféricos o ligeramente elipsoidales. Membrana incolora, transparente, pero con el objetivo de inmersión se nota un ligero tinte verdoso. No se observó micropilo. Los ooquistes esféricos o subesféricos midieron 17,0 a 19,0 μ de diámetro. Los ooquistes ligeramente elipsoidales dieron dimensiones comprendidas entre 16,0 a 18,0 μ de largo por 13,0 a 15,0 μ de ancho.

Los ooquistes de *E. cylindrica* aparecieron en escaso número en la concentración. La forma cilíndrica es una de las características importantes para reconocer esta especie. Para considerarla como tal seguimos el mismo criterio

expresado por LEE y ARMOUR (3) o sea que se toman como ooquistes cilíndricos aquellas formas cuyo tercio medio tiene lados paralelos. Las formas vistas por nosotros tienen esta característica. Los ooquistes observados no presentan micropilo, tienen una membrana fina, homogénea. Las dimensiones de los ooquistes medidos dieron como término medio 27,2 μ de largo por 15,2 μ de ancho.

DISCUSION

Hasta el momento no existe en la literatura parasitológica nacional ningún dato sobre la incidencia y las diversas especies de *Eimeria* que ocurren en nuestra población bovina. El estudio realizado sobre cien reses adultas y sanas, consideradas aptas para el destace y destinadas al consumo de carne de la Ciudad de San José, dio por resultado el hallazgo de doce infecciones por coccidios del género *Eimeria.* En siete de los casos el coccidio hallado fue *Eimeria bovis,* lo que viene a indicar que también en Costa Rica esta especie, que produce tantas pérdidas en la industria ganadera de otros países, está ampliamente distribuída y al parecer es bastante frecuente. *E. ellipsoidalis* se encontró tres veces, mientras que *E. zürni* y *E. cylindrica* solamente aparecieron una vez. Indiscutiblemente los animales parasitados presentaron una infección latente, en los que no hay ningún síntoma apreciable. En general, la eliminación de ooquistes en la materia fecal era moderada. La importancia de estas infecciones latentes es obvia, puesto que los animales se constituyen en diseminadores de ooquistes manteniendo la contaminación de los pastizales.

Próximamente daremos a conocer los resultados obtenidos en animales jóvenes de diversos hatos del país.

RESUMEN

Se examinó la materia fecal de cien reses adultas y aparentemente sanas del Matadero Municipal de San José, con el objeto de buscar ooquistes de eimeria. Este estudio dio por resultado el hallazgo de doce vacunos parasitados con estos coccidios, siendo las eimerias halladas y su incidencia la siguiente: *Eimeria bovis* siete por ciento, *E. ellipsoidalis* tres por ciento, *E. zürni* uno por ciento y *E. cylindrica* uno por ciento.

SUMMARY

Fecal matter from one hundred adult and apparently healthy head of cattle at the Municipal Slaughterhouse, San Jose, Costa Rica, was examined for *Eimeria* oocysts. Twelve animals were found to be parasitized, the species and incidence being as follows: *E. bovis,* 7 per cent; *E. ellipsoidalis,* 3 per cent; *E. zürni,* 1 per cent; and *E. cylindrica,* 1 per cent.

BIBLIOGRAFIA

1. CHRISTENSEN, J. F.
   1941. The oocysts of coccidia from domestic cattle in Alabama (U. S. A.) with description of two new species. *Jour. Parasitol.*, 27: 203-220.

2. LEE, R. P.
   1954. The occurrence of the coccidian *Eimeria bukidnonensis* Tubangui, 1931, in Nigerian cattle. *Jour. Parasitol.*, 40: 464-466.

3. LEE, R. P. & J. ARMOUR
   1959. The coccidia cocysts of Nigerian cattle. *Brit. Vet. Jour.*, 115: 6-17.

Rev. Biol, Trop., 7 (2): 225-229, 1959

Acción de hormonas vegetales sintéticas en talofitas.

I. Estudio sobre hongos patógenos **in vitro**.

por

José Miguel Jiménez S.* y John De Abate*

(Recibido para su publicación el 17 de diciembre de 1959)

Desde el descubrimiento de las hormonas vegetales, numerosos trabajos sobre su naturaleza y modo de acción han sido llevados a cabo. Los estudios realizados por THIMANN (10) y LEOPOLD (4) aclararon el mecanismo de estas hormonas. Por otra parte, POKORNY (8) en el año de 1941 sintetizó dos sustancias de naturaleza muy semejante a las auxinas vegetales, el ácido 2, 4, 5-triclorofenoxiacético y el ácido 2, 4-diclorofenoxiacético, conocidos comercialmente bajo los nombres de 2, 4, 5-T y 2, 4-D.

El hecho de que estas sustancias estimulan y aceleran el metabolismo en bajas concentraciones a los vegetales superiores, resulta interesante comparado con su acción letal en concentraciones más elevadas. Esta acción letal se debe, por lo menos en plantas superiores, a agotamiento respiratorio, producción de toxinas (lactonas y aminoácidos), actividad anormal de la fosfatasa, hidrólisis proteica, entorpecimiento de la asimilación potásica y, en general, a trastornos metabólicos (4). La absorción de las auxinas artificiales parece llevarse a cabo a través de la membrana celular, con distribución sistemática posterior.

Como era de prever, no sólo las plantas superiores producen auxinas; NIELSEN (7), ROBERTS y ROBERTS (9), GRUEN (3) y otros investigadores han comprobado su presencia en hongos.

En cuanto a la acción de las auxinas sintéticas sobre los hongos, MORQUER y NYSTERAKIS (5) obtuvieron incremento en el diámetro colonial de *Candida albicans* usando el ácido 3-indolacético en bajas concentraciones y su inhibición completa empleando el mismo ácido en concentraciones más altas. Resultados semejantes fueron observados por los investigadores BOUILLIENNE y BOUILLIENNE-WALRAND (1) y NEWMAN (6) trabajando sobre especies de

* Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Letras, Universidad de Costa Rica.

Trichophyton con el 2, 4-D, el ácido 3 indolacético y el 2, 4, 5-T. Otros autores han obtenido inhibición empleando diversas hormonas vegetales sobre hongos patógenos parásitos de plantas superiores (21).

Con estas bases, e interesados en conocer la acción de las hormonas vegetales sintéticas sobre las talófitas hemos enfocado nuestro primer estudio en algunas cepas de diversos hongos patógenos para el hombre. Nuestro interés ha sido de naturaleza doble: probar el posible estímulo del crecimiento y la acción letal. En el primer caso facilitando el diagnóstico cultural y, en el segundo, su posible terapia.

MATERIAL Y METODOS

Para realizar este estudio se seleccionaron las siguientes cepas de hongos patógenos: *Candida albicans* (UCR 85),* *Phialophora jeanselmei* (UCR 27) y *Microscorum gypseum* (UCR 45). Todos estos hongos habían sido aislados previamente de micosis dérmicas severas.

Las hormonas vegetales sintéticas empleadas fueron el 2, 4-D y el 2, 4, 5-T preparadas por la Dow Chemical Co.

Como medio de cultivo se usó el Sabouraud glucosado sólido.

Cada hormona fue diluída en agua destilada estéril e incorporada, homogéneamente, al medio de cultivo licuado previamente. Se emplearon diluciones partiendo de una concentración de 1:100 e incrementando las diluciones en progresión aritmética, 1:200, 1:300 y así sucesivamente hasta obtener una dilución de 1:1000. A partir de la dilución de 1:1000 se hicieron diluciones con un intervalo de 500, es decir 1:1500, 1:2000 etc.

La acción de las hormonas fue comprobada mediante la observación del crecimiento colonial comparado con un cultivo testigo en medio sin hormona, para cada cuatro diluciones, ya que las siembras se hacían en series de cinco tubos contando el tubo testigo. La acción letal fue determinada por la ausencia del crecimiento y por repique posterior del inóculo original en un tubo con medio de cultivo sin hormona, constatándose en esta forma, la muerte del hongo.

RESULTADOS

Habiéndose notado la acción nula del 2,4-D en cuanto a estímulo o inhibición del crecimiento de los microorganismos en estudio, se desechó su uso, concentrándonos sobre el estudio del 2, 4, 5-T únicamente.

1. *Candida albicans*. La acción del 2, 4, 5-T sobre este organismo es bien definida. Se observó crecimiento en medio adicionado de hormona en diluciones superiores a 1:3000 (190 mg/litro). Concentraciones mayores de la hormona son letales para esta levadura. Se observó que a las 20 horas de haberse

* En paréntesis el número clave de la Micoteca de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Costa Rica.

efectuado el inóculo y mantenidos los tubos a temperatura ambiente, en diluciones de la hormona de 1:12.000 (47,5 mg/litro) el diámetro de la colonia duplicó al de la colonia del tubo testigo, lo cual puede interpretarse como un estímulo del crecimiento de la *Candida* producido por la hormona. Es de notar que en todos los tubos inoculados con esta levadura, y que contenían hormona, la colonia no filamentiza, contrastando de esta manera con la colonia testigo. Esta modificación de la naturaleza colonial fue observada también por MORQUER y NYSTERAKIS (5) trabajando con *Candida albicans* y cultivada en presencia del ácido 3-indolacético.

2. *Microsporum gypseum.* En este organismo el 2, 4, 5-T tiene también una acción bastante marcada, ya que se pudo observar una inhibición del crecimiento, por acción letal de la hormona, hasta en una dilución de 1:30.000 (19 mg/litro). En diluciones mayores el crecimiento de este hongo es normal sin que se pueda observar fenómenos de estímulo.

3. *Phialophora jaenselmei.* La actividad del 2, 4, 5-T sobre este microorganismo es notable, inhibiendo su crecimiento aún en diluciones de 1:45.000 (12,8 mg/litro). En diluciones mayores no se observó ningún incremento anormal del crecimiento del hongo en comparación con colonias testigo.

CONCLUSIONES

De los experimentos realizados se concluye que el 2, 4, 5-T posee acción fungicida en concentraciones relativamente bajas, siendo al parecer, la tolerancia una cuestión puramente específica del hongo.

En los microorganismos estudiados la sensibilidad es bien definida aun cuando varía de una especie a otra, siendo las más sensibles las cepas de *Phialophora* y *Microsporum,* y la menos sensible la de *Candida albicans.*

En cuanto al estímulo del crecimiento, aun cuando evidente para *C. albicans,* no parece ser constante ni cuantitativamente suficiente para ser usado con buen éxito en el diagnóstico específico rápido de las micosis estudiadas.

Aunque en fitopatología el uso de hormonas vegetales sintéticas como fungicidas es de poco uso, creemos que en las micosis dérmicas sí sería de gran utilidad su uso, en vista de que: 1) los alentadores resultados obtenidos *in vitro* indican esa posibilidad; 2) la acción letal del 2, 4, 5-T aun en altas diluciones facilitaría la aplicación tópica de la hormona en un vehículo adecuado; y, 3) creemos que en fitopatología su aplicación y uso se haya restringido debido a la exposición de las plantas enfermas con hongos, que podrían resultar sensibles a la acción de dichas hormonas vegetales sintéticas, a la lluvia y a otros fenómenos meteorológicos que eliminarían la hormona de la superficie foliar, problema que no se presentaría en la terapia de las micosis dérmicas humanas.

En un futuro trabajo presentaremos los resultados de nuestras investigaciones clínicas, actualmente en progreso, pudiendo adelantar que hasta el momento se han obtenido resultados alentadores.

RESUMEN

Los autores investigan la acción de hormonas vegetales sintéticas sobre algunos hongos patógenos para el hombre. Fueron usados el ácido 2, 4-diclorofenoxiacético (2, 4-D) y la sal trietilamina del ácido 2, 4, 5-triclorofenoxiacético (2, 4, 5-T), estudiando su acción sobre *Candida albicans, Microsporum gypseum* y *Phialophora jeanselmei*. Se reporta la acción nula del 2, 4-D sobre estos hongos. Por otra parte se reporta la acción letal del 2, 4, 5-T sobre los organismos usados. Las concentraciones mínimas letales fueron para *Candida albicans* de 190 mg/litro; para *Microsporum gypseum* de 19 mg/litro y para *Phialophora jeanselmei* de 12,8 mg/litro.

La hormona produjo estímulo del crecimiento en *Candida albicans* en una concentración de 47,5 mg/litro sin que se notara el mismo efecto en los otros organismos estudiados.

Se hacen también algunas observaciones sobre la posible aplicación médica de esta hormona en las micosis cutáneas.

SUMMARY

The action of synthetic plant hormones on pathogenic fungi was studied. The hormones used were 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) and 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acid (2, 4, 5-T); the fungi used were *Candida albicans, Phialophora jeanselmei* and *Microsporum gypseum*. No activity was shown by 2, 4-D on these fungi. On the other hand a lethal action of 2, 4, 5-T was observed. The minimum lethal concentrations were: for *C. albicans* 190 mg/liter; for *M. gypseum* 19 mg/liter and for *Ph. jeanselmei* 12.8 mg/liter. The hormone was growth-stimulant to *C. albicans* in a concentration of 47.5 mg/liter; no stimulus was observed in the other fungi. Some remarks are made, on the possible application of these hormones in dermic mycoses, which is now being investigated.

BIBLIOGRAFIA

1. BOUILLIENNE, R., & M. BOUILLIENNE-WALRAND
1952. *Bull. acad. roy. Belg.* Classe Sci., 5ª Sér. 38: 787-815. Cit. en (2).

2. GRUEN, H. E.
1955. Auxins and Fungi. *Plant Physiol.*, 10: 405-440.

3. GRUEN, H. E.
1956. *Growth and the curvature of phycomyces sporangiophores.* Doctoral Thesis, Harvard Univ., Cambridge, Mass.

4. LEOPOLD, A. C.
1955. *Auxins and Plant Growth.* 354 pp. Univ. Calif. Press, Berkley and Los Angeles.

5. MORQUER, R., & F. NYSTERAKIS
1948. *Bull. soc. hist. nat. Tolouse,* 83: 173-199. Cit. en (2).

6. NEWMAN, A. S.
1947. The effect of certain plant growth-regulators on soil microorganisms and microbial processes. *Soil Sci.,* 12 (2): 217-221.

7. NIELSEN, N.
1928. *Planta,* 6: 376-378. Cit. en (2).

8. POKORNY, R.
1941. Some chlorophenoxyacetic acids. *J. Am. Chem. Soc.,* 63 (6): 1768.

9. ROBERTS, J. L. & ELIZABETH ROBERTS
1939. Auxin production by soil microorganisms. *Soil Sci.,* 48 (2): 135-139.

10. THIMANN, K. V.
1952. *The action of hormones in plants and invertebrates.* 228 pp. Academic Press, Inc., New York, N. Y.

Rev. Biol. Trop., 7 (2): 231, 1959

Retortamonas intestinalis (Wenyon et O'Connor) en Costa Rica.

por

Armando Ruiz* y Mario Alfaro*

(Recibido para su publicación el 26 de diciembre de 1959)

La *Retortamonas intestinalis* es uno de los flagelados intestinales del hombre de más baja incidencia. Esta rareza pareciera ser universal según se desprende de los datos que se tienen en la actualidad. Costa Rica es uno de los países en donde no se había señalado la presencia de este flagelado, como pudimos comprobar revisando la escasa literatura parasitológica nacional. Por tal razón consideramos oportuno dar a conocer el hallazgo de este interesante parásito en nuestro medio.

El flagelado en cuestión apareció en un coprocultivo por protozoarios intestinales que se efectuó a un paciente proveniente de la Sección de Salud del Departamento de Bienestar y Orientación de nuestra Universidad. El medio de cultivo empleado es una modificación al medio de Dobell y Laidlaw, que hemos venido usando en nuestro laboratorio desde hace más de dos años. La estructura del flagelado es muy característica, lo que permite hacer el diagnóstico fácilmente. Sin embargo, cabe recordar aquí, que tanto los trofozoitos como los quistes de *Retortamonas intestinalis* tienen algo en su aspecto general que recuerdan a las mismas formas del *Chilomastix*, incluso, los quistes de retortamonas, en preparaciones bien teñidas, conservan los parastilos de igual manera como sucede con los quistes de *Chilomastix*, por lo que personas poco experimentadas podrían confundirlos. En nuestro caso, el examen directo de las heces no mostró la presencia de trofozoitos de retortamonas, sino únicamente escasos quistes, cuya identificación definitiva se dejó para las preparaciones teñidas con hematoxilina de Heidenhain. A las 48 horas el cultivo mostró abundantes trofozoitos de retortamonas así como también *Trichomonas hominis*.

---

* Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

INDICE DE AUTORES Y TRABAJOS DEL VOLUMEN VII

ALFARO, M.—Ver Ruiz, A., pág. 219.

ALFARO, M.—Ver Ruiz, A., pág. 231.

ARROYO, G., & R. BOLAÑOS.—Enteritis infecciosa de los terneros. I. Estudio de tres brotes en diferentes localidades del país 89

ARROYO, G.—Ver Brenes, R. R., pág. 81.

BABERO, B. B., JACQUELINE R. SHEPPERSON & TEOFILA C. SICAY.—Additional records of Gnathostomes in North American hosts 63

BOLAÑOS, R.—Frecuencia de *Salmonella* y *Shigella* en moscas domésticas colectadas en la ciudad de San José 207

BOLAÑOS, R.—Ver Arroyo, G., pág. 89.

BRAVO HOLLIS, MARGARITA.—Ver Brenes, R. R., pág. 35.

BRENES, R. R., & MARGARITA BRAVO HOLLIS.—Helmintos de la República de Costa Rica. VIII. Nematoda 2. Algunos nemátodos de *Bufo marinus marinus* (L) y algunas consideraciones sobre los géneros *Oxysomatium* y *Aplectana* 35

BRENES, R. R., G. ARROYO & E. DELGADO.—Helmintos de la República de Costa Rica. XI. Sobre la validez del género *Langeronia* Caballero y Bravo, 1949 (Trematoda: Lecithodendriidae) y hallazgo de *Ochetosoma miladelarocai* Caballero y Vogelsang, 1947 81

BRENES, R. R. & O. JIMÉNEZ-QUIRÓS.—Helmintos de la República de Costa Rica. XII. *Zonorchis costarricensis* n. sp. (Trematoda, Dicrocoeliidae) parásito de vías biliares de *Gymnostinops montezuma* (Icteridae) 125

BRENES, R., G. ARROYO, O. JIMÉNEZ & E. DELGADO.—Helmintos de la República de Costa Rica. XIII. Algunos tremátodos de *Rana pipiens*. Descripción de *Glypthelmins facioi* n. sp 191

CABALLERO Y C., E.—Consideraciones en torno a la familia Xenoperidae Poche, 1925 (Trematoda, Digenea Carus, 1863) 57

CALDWELL, D. K., L. H. OGREN & L. GIOVANNOLI.—Systematic and ecological notes on some fishes collected in the vicinity of Tortuguero, Caribbean coast of Costa Rica 7

CLAUDATUS, J., P GUTIERREZ & D. LEFEMINE.—Decarboxylation pathways of amino acids in some mammal and bird tissues 133

CRUZ, E. DE LA.—Epidemiología de la salmonelosis en Costa Rica. III. Salmonelas en manipuladores de carnes procesadas 1

DE ABATE, J.—Ver Jiménez, J. M., pág. 225.

DELGADO, E.—Ver Brenes, R. R., pág. 81.

DELGADO, E.—Ver Brenes, R. R., pág. 191.

GIOVANNOLI, L.—Ver Caldwell, D. K., pág. 7.

GUTIERREZ, P.—Ver Claudatus, J., pág. 133.

JAKOWSKA, SOPHIE.—Algunos problemas en hematología comparada 143
JIMÉNEZ, J. M.—Determinación del nitrógeno ureico y de la glucosa en 0,25 ml de sangre capilar 203
JIMÉNEZ, J. M., & J. DE ABATE.—Acción de hormonas vegetales sintéticas en talofitas. I. Estudio sobre hongos patógenos *in vitro* 225
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Ascariasis con manifestaciones nerviosas y eosinofilia del *liquor* 67
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Difentano-70: tratamiento electivo en himenolepiasis nana 75
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Epidermofitosis de los pies (pie de atleta) en estudiantes preuniversitarios 199
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O., & LUZ MARINA ZAMORA.—Parasitosis intestinal en el universitario costarricense. III. Terapéutica 95
JIMÉNEZ-QUIRÓS, O., *et. al.*—Manifestaciones alérgicas en oftalmología. Nota previa. 131
JMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Ver Brenes, R. R., pág. 125.
JMÉNEZ-QUIRÓS, O.—Ver Brenes, R. R., pág. 191.
LEFEMINE, D.—Ver Claudatus, J., pág. 133.
MATA, GRACE G. DE & L. MATA.—Dermatofitosis en Costa Rica. I. Observaciones sobre 76 casos 157
MATA, GRACE G. DE.—Ver Mata, L., pág. 119.
MATA, L. & GRACE G. DE MATA.—Demostración de *Microsporum gypseum* y *Keratinomyces ajelloi* en suelos de Costa Rica 119
MATA, L.—Ver Mata, Grace G. de, pág. 157.
OGREN, L. H.—Ver Caldwell, D. K., pág. 7.
RUIZ, A.—Algunas consideraciones sobre el aparato bucal del *Cyclidium* glaucoma O. F. Müller, 1786 107
RUIZ, A.—*Eimeria intermedia* n. sp. parásita de la lagartija *Anolis intermedius* Peters 109
RUIZ, A.—Sobre la presencia de un *Dactylosoma* en *Bufo marinus* 113
RUIZ, A.—Notes on Costa Rican opalids. I. *Opalina moreletei* Metcalf 217
RUIZ, A.—Eimerias de los bovinos de Costa Rica. I. Incidencia en animales adultos y sanos 221
RUIZ, A., & M. ALFARO.—Notes on Costa Rican opalinids. II. *Zelleriella antillensis* (Metcalf) and *Z. bufoxena* Metcalf 219
RUIZ, A., & M. ALFARO.—*Retortamonas intestinalis* (Wenyon et O' Connor) en Costa Rica 231
SHEPPERSON, JACQUELINE R.—Ver Babero, B. B., pág. 63.
SICAY, TEOFILA C.—Ver Babero, B. B., pág. 63.
ZELEDÓN, R.—Efecto de la prodigiosina sobre la respiración de la forma de cultivo de *Schizotrypanum cruzi* 211

REVISTA

DE

BIOLOGIA TROPICAL

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

VOLUMEN 7

1959

CONSTA DE II + II + 234 PP. INCLUYENDO FIGURAS

Toda la correspondencia, así como los artículos que se deseen someter para su publicación deberán ser enviados a: Comité de Redacción de "REVISTA DE BIOLOGIA TROPICAL". Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, A. C.

INFORMACION PARA LOS COLABORADORES

Esta REVISTA publica sólo trabajos originales e inéditos.

El COMITE DE REDACCION se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales en ningún caso serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados en papel blanco de carta, escritos a máquina, a doble espacio, con tinta azul o negra y en páginas numeradas, indicándose la institución donde fueron realizados. Se aceptan trabajos que tengan como máximo 20 páginas; sólo excepcionalmente y a juicio del COMITE DE REDACCION, se publicarán trabajos mayores.

Se aceptan artículos en los siguientes idiomas: castellano, inglés, francés, portugués, italiano y alemán. Es obligatorio por lo menos un resumen en castellano.

La corrección de las pruebas de imprenta estará a cargo de los autores, pero se advierte que los trabajos enviados deben tener carácter definitivo.

Se aceptan fotos, cuadros y diseños, gráficos, etc. en tinta china y en número prudente, tomándose en cuenta las dimensiones de la REVISTA.

Las ilustraciones serán enviadas en hojas aparte con el nombre del autor y el número de la figura. Las leyendas correspondientes serán agrupadas por separado. En caso de microfotografías es necesario especificar el aumento.

Las citas bibliográficas, escritas en hoja aparte, seguirán el siguiente orden: apellido e inicial del nombre del autor, año, título del artículo por extenso, nombre de la revista (abreviación reconocida), volumen, número, primera y última página del artículo. En caso de libros, debe especificarse además la casa editora, lugar y número de edición.

Serán entregadas gratuitamente 100 copias de sus trabajos a los autores que están suscritos a la revista. Los no suscritos recibirán únicamente 50 copias.

Suscripción anual: Costa Rica ₡ 10.00. Otros países $2.00
Número suelto : Costa Rica ₡ 6.00. Otros países $1,25

INFORMACION PARA LOS COLABORADORES

Esta REVISTA publica sólo trabajos originales e inéditos.

El COMITE DE REDACCION se reserva el derecho de aceptar o rechazar los trabajos recibidos. Los originales en ningún caso serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados en papel blanco de carta, escritos a máquina, a doble espacio, con tinta azul o negra y en páginas numeradas, indicándose la institución donde fueron realizados. Se aceptan trabajos que tengan como máximo 20 páginas; sólo excepcionalmente y a juicio del COMITE DE REDACCION, se publicarán trabajos mayores.

Se aceptan artículos en los siguientes idiomas: castellano, inglés, francés, portugués, italiano y alemán. Es obligatorio por lo menos un resumen en castellano.

La corrección de las pruebas de imprenta estará a cargo de los autores, pero se advierte que los trabajos enviados deben tener carácter definitivo.

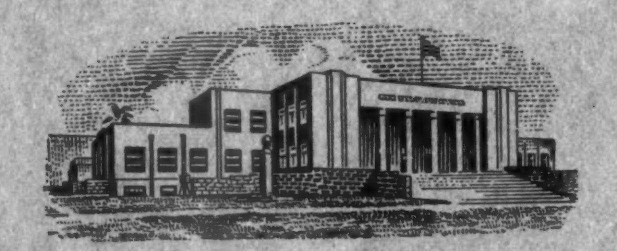
Se aceptan fotos, cuadros y diseños, gráficos, etc. en tinta china y en número prudente, tomándose en cuenta las dimensiones de la REVISTA.

Las ilustraciones serán enviadas en hojas aparte con el nombre del autor y el número de la figura. Las leyendas correspondientes serán agrupadas por separado. En caso de microfotografías es necesario especificar el aumento.

Las citas bibliográficas, escritas en hoja aparte, seguirán el siguiente orden: apellido e inicial del nombre del autor, año, título del artículo por extenso, nombre de la revista (abreviación reconocida), volumen, número, primera y última página del artículo. En caso de libros, debe especificarse además la casa editora, lugar y número de edición.

Serán entregadas gratuitamente 100 copias de sus trabajos a los autores que están suscritos a la revista. Los no suscritos recibirán únicamente 50 copias.

Suscripción anual: Costa Rica ₡ 10.00. Otros países $2.00
Número suelto : Costa Rica ₡ 6.00. Otros países $1,25



IMPPESA EN LOS TALLERES TIPOGRAFICOS FALCO LTDA.

